

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



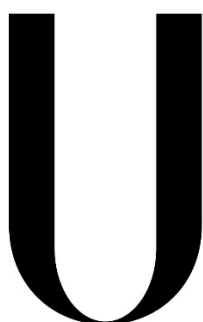
**Modelação multivariada conjugada com
espectroscopia NIR para a otimização de uma
formulação contendo elevado teor em Vitamina C**

João Mochão

Tese de Mestrado
Mestrado em Engenharia Farmacêutica
2015

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA

**Modelação multivariada conjugada com
espectroscopia NIR para a otimização de uma
formulação contendo elevado teor em Vitamina C**

João Mochão

**Tese de Mestrado orientada pelo Professor Doutor
João Lopes**

Mestrado em Engenharia Farmacêutica

2015

Resumo

Este trabalho propõe o desenvolvimento de formulações de comprimidos de elevado teor em vitamina C através do uso de modelos matemáticos multivariados, a partir de dados correspondentes à composição das formulações, e da aquisição de espectros de infravermelho próximo (NIR). Inicialmente, foram desenvolvidos e produzidos 20 ensaios de comprimidos de formulações contendo celulose microcristalina (MCC), polivinilpirrolidona (PVP) e sorbitol (SBT) e quantidades padrão de vitamina C (Vit. C) (1000 mg) e de estearato de magnésio (MS) (15 mg). As 20 formulações produzidas foram definidas de acordo com um desenho experimental de mistura. As formulações para apresentarem requisitos de qualidade, teriam de ter valores de friabilidade, dureza e desagregação conforme as seguintes especificações: friabilidade inferior a 1%, dureza superior a 10 kPa, e desagregação inferior a 30 minutos (ideal) ou 45 minutos (aceitável). Foram desenvolvidos modelos de regressão com base na regressão linear múltipla para previsão dos testes. O modelo para a friabilidade demonstrou que os ingredientes SBT, MCC e PVP contribuem para a sua diminuição. O modelo para a dureza, demonstrou que os ingredientes SBT, MCC e PVP contribuem para o seu aumento. O modelo para a desagregação demonstrou que a MCC e a PVP contribuem para a diminuição da desagregação, enquanto o SBT não tem significância estatística. A partir dos modelos criados, tentou-se criar uma formulação ideal para um objetivo de friabilidade (0,5%), dureza (15 kPa) e desagregação (15 min). Criou-se igualmente um *design-space* de acordo com estas especificações de qualidade. O melhor *design-space* encontrado neste trabalho apresentou valores de 2 000 DPMO (defeitos por milhão de oportunidades), e foi executado para um objetivo de friabilidade (0,5%), dureza (15 kPa) e desagregação (30 min). Por último, a partir dos espectros NIR adquiridos, foram desenvolvidos e validados modelos PLS para estimativa de todos os ingredientes presentes nas formulações e para os testes de desagregação, friabilidade e dureza. Os modelos baseados nos espectros NIR para previsão da composição das formulações geraram valores muito bons em termos das figuras-de-mérito ($RMSECV$, R_{cv}^2 e RER). O modelo para a PVP foi o que apresentou um desempenho menor. Para os testes de desagregação, dureza e friabilidade foram construídos dois modelos PLS, um apenas com base nos espectros NIR, e outro conjugandoos espectros NIR com as composições das formulações. Verificou-se que dos três modelos construídos para a friabili-

dade, o que demonstrou melhor desempenho foi o modelo construído apenas com os espectros NIR. Já para a dureza, o modelo com melhor desempenho foi o modelo construído a partir da combinação das composições com os espectros NIR. Para a desagregação, o modelo com melhor desempenho foi o modelo construído por MLR a partir das composições. Em relação aos parâmetros, a dureza foi a que apresentou os modelos com melhor desempenho, seguida da desagregação e friabilidade.

Palavras-chave Comprimidos de vitamina C; Delineamento experimental; Quimiometria; Espectroscopia de infravermelho próximo; Indústria Farmacêutica

Abstract

This work proposes the development of high Vitamin C content tablets resorting to of multivariate models based on formulations composition and NIR spectra obtained directly from tablets. Initially, 20 formulations were generated according to a mixture design and used to produce tablets. Formulations were based on a mixture of components at variable amounts (microcrystalline cellulose (MCC), polyvinylpyrrolidone (PVP) and sorbitol (SBT)) and components at fixed amounts (vitamin C (Vit. C) (1000 mg) and magnesium stearate (MS) (15 mg)). In order to comply with product quality requirements, the produced formulations should have values of friability, hardness and disintegration according to the following specifications: friability below 1%, hardness above 10 kPa, and disintegration time below 30 minutes (optimal) or 45 minutes (acceptable). Explanatory models based on multiple linear regression were estimated to predict the aforementioned properties from composition of variable components (MCC, PVP and SBT). The model for friability showed that the SBT, MCC and PVP ingredients, contribute all to a reduction. The model for hardness showed that the SBT, MCC and PVP ingredients, contribute to increase this property. The model for disintegration time showed that both MCC and PVP contribute for its reduction, while SBT was not statistically significant. From these models, an optimal formulation for a purpose of friability (0.5%), hardness (15 kPa) and disintegration (15 min) was estimated. Additionally, the definition of the design-spaces for this product was assessed. The best design-space yielded values of 2000 DPMO (defects per million opportunities), and was executed for a target of 0,5% friability, 15 kPa hardness and 30 min disintegration time. Finally, from the NIR spectra acquired directly from tablets in diffuse reflectance mode, PLS models were calibrated for the three properties and for all ingredients present in the formulations. All models were found adequate according to the figures-of-merit RMSECV, R^2_{cv} and RER). Models for the estimation of PVP were those that achieved the lowest performance in terms of these figures-of-merit. For the disintegration, hardness, and friability two PLS models, one based solely on the NIR spectra, and a second based on the combination of NIR spectra and tablet compositions were performed. It was found that for the three models built for friability, the model that demonstrated the best performance, was the model constructed using NIR spectra only. For hardness, the model with the best performance was

that built combining compositions with NIR spectra. For disintegration, the model with the best performance was constructed by MLR from the compositions. Regarding the analysed parameters, the hardness was the parameter that presented models with better performance, followed by disintegration time.

Keywords Vitamin C tablets; Experimental Design; Chemometrics; Near Infrared Spectroscopy; Pharmaceutical Industry

Lista de Figuras

3.1	Vibrações fundamentais para uma molécula linear (a) e para uma molécula não linear (b).	22
3.2	Diagrama esquemático de um interferômetro de Michelson configurado para FTIR.	25
3.3	Esquema da metodologia a utilizar.	41
4.1	Balança eletrônica Mettler Toledo MS 300 2S/01.	51
4.2	Prensa manual Specac.	52
4.3	Balança eletrônica Mettler Toledo AG204 Delta Range.	53
4.4	Erweka Apparatebau GMBH TAUZ.	54
4.5	Erweka Apparatebau GMBH TBH28.	54
4.6	Erweka Apparatebau GMBH, Type: ZT4/1.	55
4.7	Balança eletrônica Mettler Toledo AG245.	56
4.8	FT-NIR analyser: Thermo-Fisher ANTARIS.	58
5.1	Doseamento do ácido ascórbico nos ensaios efetuados.	63
5.2	Valores de friabilidade obtidos para os ensaios efetuados.	65
5.3	Valores de dureza obtidos para os ensaios efetuados.	67
5.4	Valores de tempo de desagregação obtidos para os ensaios efetuados.	69
5.5	Distribuição dos resíduos para o modelo para a desagregação não otimizado.	74
5.6	Coefficientes do modelo da desagregação.	74
5.7	Valores absolutos da importância de cada termo do modelo para a desagregação ordenados por ordem decrescente.	76
5.8	Distribuição dos resíduos para o modelo para a friabilidade não otimizado.	77

5.9	Valores observados versus previstos pelo modelo não otimizado para a friabilidade.	77
5.10	Coeficientes do modelo para a friabilidade.	78
5.11	Valores absolutos da importância de cada termo do modelo para a friabilidade ordenados por ordem decrescente.	79
5.12	Valores absolutos da importância de cada termo do modelo para a dureza ordenados por ordem decrescente.	81
5.13	<i>Design-space</i> para a dureza.	86
5.14	<i>Design-space</i> para a desagregação.	87
5.15	<i>Design-space</i> para a friabilidade.	87
5.16	<i>Design-space</i> para a dureza combinada com a friabilidade.	88
5.17	<i>Design-space</i> para a desagregação combinada com a friabilidade.	88
5.18	<i>Design-space</i> para a desagregação combinada com a dureza.	89
5.19	<i>Design-space</i> para a desagregação, friabilidade e dureza combinadas.	89
5.20	<i>Design-space</i> para a desagregação, friabilidade e dureza combinadas utilizando os melhores resultados.	90
5.21	Espectros NIR médios obtidos em reflectância difusa relativos aos 20 comprimidos de Vitamina C analisados.	91
5.22	Espectros NIR médios obtidos em reflectância difusa relativos aos cinco componentes das formulações desenvolvidas. Os espectros foram obtidos a partir dos componentes em pó.	93
5.23	Mapa de componentes principais obtidos através de um modelo PCA aplicado aos: A) dados contendo as massas dos cinco componentes usadas nas 20 formulações, B) espectros NIR dos comprimidos baseados nas 20 formulações processados com SG(15,2,1) e centro na média e C) dados contendo os valores dos três ensaios farmacotécnicos aplicados às 20 formulações	94
5.24	Valores de <i>RMSECV</i> segundo as variáveis latentes dos métodos de pré-processamento com melhores resultados.	95
5.25	Valores experimentais em função dos valores previstos pelos modelos PLS para os parâmetros dureza, desagregação, friabilidade, MCC, SBT, PVP, Vit. C e MS.	97

5.26	Valores de <i>RMSECV</i> em função do número de variáveis latentes para os modelos gerados.	101
5.27	Valores experimentais em função dos valores previstos pelos modelos PLS para os parâmetros dureza, desagregação e friabilidade.	101

Lista de Tabelas

4.1	Resumo dos ingredientes utilizados.	46
4.2	Resumo dos intervalos dos ingredientes a utilizar (todos os valores estão em mg).	47
4.3	Formulações desenvolvidas com utilização de delineamento experimental usando o software Design Expert 9.0. Todos os valores estão em mg.	48
4.4	Massas dos ingredientes e dos ensaios pesadas.	50
5.1	Resultado das pesagens de 20 comprimidos dos ensaios 1 a 20 (todos os valores em g).	60
5.2	Valores do doseamento do ácido ascórbico por ensaio.	62
5.3	Resultados dos testes de friabilidade.	64
5.4	Resultados dos testes de dureza.	66
5.5	Resultados dos testes de desagregação.	68
5.6	Ensaio conformes, não conformes e motivo de não conformidade.	70
5.7	Ensaio com melhores resultados nos testes de farmacotecnica e seu respectivo custo.	71
5.8	Tabela de dados inserida no Modde para otimização.	72
5.9	Coefficientes e significância estatística para o modelo otimizado de previsão da desagregação ($R^2=0,86$ e $Q^2=0,661$).	75
5.10	Coefficientes e significância estatística para o modelo otimizado de previsão da friabilidade ($R^2=0,965$ e $Q^2=0,896$).	78
5.11	Coefficientes e significância estatística para o modelo otimizado de previsão da dureza ($R^2=0,945$ e $Q^2=0,886$).	80

5.12	Resumo dos modelos estimados para as três respostas com base nos três fatores que foram variados.	82
5.13	Intervalo de dados pretendidos em relação aos valores de friabilidade, dureza e desagregação.	83
5.14	Tabela com listagem de formulações encontradas após otimização com os respetivos cálculos de capacidade. Minimizar o $\text{Log}(D)$ ou o $DPMO$ são opções possíveis para escolher uma solução.	85
5.15	Intervalo de dados dos valores de friabilidade, dureza e desagregação correspondentes ao <i>design-space</i> da Fig. 5.20.	90
5.16	Resumo dos resultados de pré-processamento, variáveis latentes e respetivos $RMSECV$ para os parâmetros modelados.	96
5.17	Resumo dos resultados dos valores de correlação e os erros relativos do modelo de cada parâmetro.	98
5.18	Resumo dos resultados obtidos para os modelos PLS para os parâmetros SBT, MC, PVP, Vit. C, MS, friabilidade, dureza e desagregação.	99
5.19	Resumo dos resultados de pré-processamento, variáveis latentes e respetivos $RMSECV$ para os parâmetros modelados.	100
5.20	Resumo dos resultados em termos de coeficientes de determinação e erros relativos para os vários modelos desenvolvidos.	102
5.21	Resumo dos resultados obtidos para os modelos PLS dos parâmetros friabilidade, dureza e desagregação.	103
5.22	Comparação entre os resultados dos vários modelos desenvolvidos para os parâmetros friabilidade, dureza e desagregação.	104

Abreviaturas

CPP	Parâmetro crítico de processo
CQA	Atributo crítico de qualidade
DOE	Delineamento experimental
FTIR	Infravermelho com transformada de Fourier
GMP	Boas práticas de fabrico
I&D	Investigação & desenvolvimento
MCC	Celulose microcristalina
MIR	Infravermelho médio
MLR	Regressão linear múltipla
MS	Estearato de magnésio
MSC	Correção multiplicativa de sinal
NIR	Infravermelho próximo
PAT	Tecnologia analítica de processo
PC	Componente principal
PCA	Análise de componentes principais
PLS	Regressão por mínimos quadrados parciais
PVP	Polivinilpirrolidona
RER	Razão amplitude-erro (<i>range error ratio</i>)
RMSE	Raiz quadrada do erro quadrático médio
RMSEC	Raiz quadrada do erro quadrático médio de calibração
RMSECV	Raiz quadrada do erro quadrático médio de validação cruzada
RMSEP	Raiz quadrada do erro quadrático médio de previsão
SBT	Sorbitol
SG	Filtro de Savitzky-Golay
SNV	Variação padrão normal
THz	Terahertz
Vit.C	Vitamina C

Conteúdo

1	Enquadramento e motivação	14
2	Objetivos	15
3	Introdução	16
3.1	Suplementos alimentares	16
3.2	Produção de medicamentos	18
3.3	Espectroscopia de infravermelho: conceitos básicos	21
3.4	Espectroscopia de infravermelho próximo (NIR)	23
3.4.1	Instrumentação NIR	24
3.5	Quimiometria	25
3.5.1	Pré-processamento espectral	26
3.5.2	Análise multivariada	29
3.6	Estudos anteriores	35
3.7	Descritivo da empresa	35
3.7.1	Produção	36
3.7.2	Investigação e desenvolvimento	37
3.8	Metodologia	39
4	Materiais e métodos	42
4.1	Ingredientes	42
4.1.1	Ingrediente principal (Vitamina C)	42
4.1.2	Excipientes	43
4.2	Produção dos comprimidos de vitamina C por delineamento experimental . .	46

4.3	Pesagem e mistura	49
4.4	Compressão	51
4.5	Testes farmacotécnicos	52
4.5.1	Friabilidade	53
4.5.2	Dureza	53
4.5.3	Desagregação	55
4.5.4	Uniformidade de massa	55
4.5.5	Uniformidade de teor	56
4.6	Aquisição espectral	57
5	Resultados e discussão	59
5.1	Testes farmacotécnicos	59
5.1.1	Uniformidade de massa	59
5.1.2	Doseamento do ácido ascórbico	61
5.1.3	Friabilidade	63
5.1.4	Dureza	65
5.1.5	Desagregação	67
5.1.6	Resumo dos ensaios conformes e não conformes	69
5.2	Modelação da friabilidade, dureza e desagregação com base na composição	71
5.2.1	Desagregação	73
5.2.2	Friabilidade	76
5.2.3	Dureza	79
5.2.4	Análise dos modelos	81
5.3	Estimativa da formulação ideal de comprimidos com 1000 mg de Vit. C	83
5.3.1	Otimização da formulação	83
5.3.2	Geração dos <i>design-spaces</i>	86
5.4	Modelação com base nos dados espectroscópicos	90
5.4.1	Análise exploratória	92
5.4.2	Modelos baseados nos espectros NIR	94
5.4.3	Modelos baseados em espectros NIR e composições	100
5.4.4	Comparação dos modelos	102

6 Conclusões	105
6.1 Perspetivas futuras	107
Bibliografia	108

Capítulo 1

Enquadramento e motivação

A evolução global da humanidade, tanto a nível social como económico, coloca um grande desafio e exige um grande progresso à indústria farmacêutica, responsável por desenvolver, produzir e comercializar medicamentos. A evolução social impõe novos padrões de atuação, pelo impacto que o medicamento tem no bem-estar da humanidade, seja na prevenção, seja no tratamento da doença. A globalização económica exige à indústria farmacêutica um crescente aperfeiçoamento empresarial, em domínios que vão desde a qualidade dos produtos, à investigação e desenvolvimento, ao marketing utilizado, e até aos preços praticados ou à capacidade de adaptação cultural e de regulamentação de mercados externos. As indústrias e organizações têm gasto consideráveis esforços e recursos no sentido de promover a melhoria contínua do processo de produção, para garantir sua competitividade e conquistar uma posição sólida no mercado. Atualmente, com a globalização da economia e a maior exigência dos clientes quanto à qualidade e ao tempo de entrega dos produtos ou serviços, torna-se cada vez maior a competitividade entre as empresas, fazendo com que a sobrevivência de organizações no mercado seja cada vez mais difícil. Para continuar no mercado, são necessárias mudanças no setor administrativo e no sistema de produção das empresas. Os objetivos das empresas produtoras de medicamentos não dependem apenas da produção, mas também em ser competitivas em termos de preços, qualidade, serviços, além de tentar diminuir ao máximo o tempo de entrega do produto acabado, direcionando os seus esforços para a satisfação do cliente [Santos, 2011].

Capítulo 2

Objetivos

O objetivo desta tese é determinar qual a quantidade mínima de excipientes necessária para a produção de comprimidos com 1000 mg de vitamina C, segundo os requisitos e suas especificações de qualidade utilizadas pela empresa Lecifarma. Para tal serão analisados quais os excipientes a usar, segundo a disponibilidade de “stock” da empresa, e o processo de produção mais rápido e economicamente viável a adotar.

Para se encontrarem formulações viáveis ao objetivo desta tese, serão criados modelos matemáticos explicativos dos requisitos de qualidade em função da quantidade de excipientes utilizada. Com estes modelos pretender-se-á criar um *design-space* de formulação crítico para a qualidade dos comprimidos.

Também é objetivo deste trabalho, através de uma análise multivariada, e de uma abordagem espectrofotométrica pela aquisição de espectros NIR dos comprimidos produzidos, a criação de modelos explicativos para todos os ingredientes utilizados nas formulações, assim como para os parâmetros responsáveis pelos requisitos de qualidade.

Capítulo 3

Introdução

3.1 Suplementos alimentares

Os suplementos alimentares têm acompanhado a evolução do homem ao longo do tempo pelos benefícios que acarretam e, deste modo, têm tido um papel cada vez mais importante na alimentação [Costa et al., 2010]. Segundo um estudo da Marktest de 2013, a Marktest contabiliza 1 milhão de portugueses que referem ter consumido vitaminas ou outros suplementos alimentares nos últimos 12 meses, significando este número cerca de 12,7% dos residentes no continente com mais de 15 anos. Na análise do perfil destes indivíduos, a Marktest refere que o género é a variável mais discriminante, apresentando valores mais diferenciados entre si em termos de consumo destes suplementos alimentares. Entre as mulheres é maior a probabilidade de encontrar consumidores destes produtos (15.0% delas referem consumi-los, face a 10.1% dos homens). As tendências de bem-estar e saúde têm cativado a atenção e o interesse dos consumidores levando-os a gastar milhões de euros. Face a este interesse, o número de fabricantes tem aumentado nos últimos anos, assim como o número de marcas e produtos disponíveis, resultando numa forte competição de marcas [Cabaça, 2014]. Este crescimento do mercado dos suplementos alimentares, só abrandado pela crise financeira verificada em Portugal, é uma ótima oportunidade para as unidades fabris da indústria farmacêutica poderem diversificar os seus produtos, pois para além de produzirem medicamentos, também podem ter novas fontes de receitas com a produção de suplementos alimentares. Com o crescimento do mercado na última década, surgiram novas empresas, com novos produtos, onde a estra-

tégia passava pela comercialização de suplementos alimentares “inovadores”, cuja composição se baseava em componentes “exóticos” pouco conhecidos do grande público português, a que o marketing apregoava propriedades milagrosas (p.e. Aloé Vera, Mangostão, Gingseng entre outros). Com o decorrer dos anos, devido à concorrência, com a importação cada vez mais facilitada destes componentes exóticos, e com o crescente acesso à informação pelo público, estes componentes tornaram-se vulgares, perdendo-se assim o carácter diferenciador pretendido destes produtos. As empresas perceberam então que o que poderia diferenciar os seus suplementos alimentares, não era uma questão “qualitativa”, pois os componentes dos seus produtos estavam facilmente acessíveis aos seus concorrentes, sendo quase impossível ter um componente exclusivo. Desta forma, a estratégia adotada passou a focar-se na questão “quantitativa”. A diferenciação entre produtos passou a ser estabelecida pela quantidade de cada componente na formulação, tentando as empresas que os seus produtos tivessem mais quantidade de certos componentes do que a concorrência. Esta nova abordagem originou modificações nas formas farmacêuticas. De forma a corresponder às composições requeridas, os comprimidos foram ficando cada vez com maior massa, as soluções cada vez mais concentradas, e as cápsulas cada vez com maior volume ocupado. Hoje em dia, devido aos requisitos de componentes das empresas, as formas farmacêuticas encontram-se já no seu limite, não podendo ser muito mais aumentadas. Devido à concorrência, existe uma imposição das empresas nos componentes e respetivas quantidades que devem figurar na forma farmacêutica. Como as formas farmacêuticas já se encontram no limite, não tem outra alternativa o formulador galénico, visto que não pode aumentar a massa da fórmula galénica, nem reduzir os componentes impostos pelas empresas, que não seja diminuir a quantidade dos excipientes. Esta nova realidade veio dificultar a formulação galénica de formas farmacêuticas, pois até agora havia margem por parte do formulador, para utilizar a quantidade de excipientes necessária, para a forma farmacêutica apresentar qualidade necessária, atestada pelos testes farmacotécnicos. Devido às imposições de composição, o formulador galénico é obrigado a utilizar a quantidade mínima de excipientes necessária para a forma farmacêutica apresentar a qualidade necessária. Não existe forma de calcular esta quantidade mínima de excipientes a ser utilizada, passando esta determinação pela experiência do formulador, e pela realização de ensaios piloto com os respetivos testes farmacotécnicos de avaliação. Desta forma, a elaboração de uma forma farmacêutica que contenha os componentes impostos, que tenha

o tamanho ideal para a sua toma, e que tenha a qualidade necessária, pode ser bastante complicada e dispendiosa, tipicamente feita por tentativa e erro.

3.2 Produção de medicamentos

Um sistema produtivo é formado por recursos (mão-de-obra, máquinas, computadores) que, a partir de operações de transformação de matérias-primas, trabalham em conjunto para o desenvolvimento de produtos. Estes sistemas devem ser administrados com o objetivo de atender às necessidades de um mercado cada vez mais competitivo, minimizando desperdícios e custos de modo a maximizar o lucro da empresa [Gendrin et al., 2008a]. Até os anos 70, os sistemas de produção trabalhavam a plena carga, oferecendo um número limitado de produtos, para uma necessidade normalmente maior que a capacidade de produção. Desta forma não havia grandes dificuldades no planeamento da produção, uma vez que era apenas necessário identificar o processo limitante do processo produtivo a partir do qual se estabelecia a capacidade máxima da produção. A partir da década de 70, devido aos avanços tecnológicos, os sistemas começaram a evoluir para uma situação em que a capacidade de produção se tornou maior que o mercado e assim passou-se da produção em larga escala de poucos produtos para a produção em pequenos lotes de produtos diversificados. Este fato levou o sistema produtivo a implantar novas políticas para atender melhor o cliente e ganhar competitividade. [Gendrin et al., 2008a] As primeiras tentativas para aumentar a sofisticação dos sistemas de produção, recaíram num investimento na tecnologia, com o recurso a computadores mais poderosos, robôs, máquinas de controlo numérico, etc. Este investimento na tecnologia tentava dar resposta à necessidade do mercado de novos produtos, com maior qualidade, rapidez de entrega e preços competitivos. No entanto o progresso tecnológico não resolveria todos os problemas do planeamento e da produção, pois quanto mais sofisticados os sistemas, maior atenção deve ser dada às atividades de gestão para que os recursos sejam melhor utilizados; e quanto mais flexíveis os sistemas de produção são, maior é o número de possibilidades de operação a serem consideradas pelo gestor quando da seleção da melhor solução. Em suma, quanto mais complexos os sistemas mais complexo o processo de gestão [Gendrin et al., 2008a, Riddick and LeCapitaine, 2001]. Atualmente, os sistemas mais modernos de produção, assentam na ideia de processo contínuo, em que se

montam linhas de produção para um determinado produto que contemplam as principais etapas do processo produtivo, (p.e., granulação, mistura final, compressão, embalagem e outras). Desta forma, tenta-se restringir a produção de um produto a uma zona delimitada, diminuindo a circulação das matérias-primas/produtos intermédios/material de acondicionamento, e minimizando contaminações cruzadas. Para o processo contínuo ser exequível, este tem de ser controlado em tempo real, pois não há nenhuma etapa do processo que esteja parada, já que estão todas a decorrer ao mesmo tempo [European-Commission, 2010]. De forma a criar estratégias e equipamentos de controlo do processo que pudessem alcançar um elevado desempenho e qualidade produtiva em tempo real, aumentando a eficiência do processo produtivo, desenvolveram-se novas estratégias de controlo em processo, denominadas tecnologias analíticas de processo (PAT). Estas novas ferramentas, permitem vantagens, como a definição dos parâmetros críticos de processo (CPP) do equipamento usado no fabrico, que afetam os atributos críticos de qualidade (CQA). Assim controlando os limites dos CPPs, controla-se os CQAs, permitindo a produção com qualidade consistente ao longo do processo e do tempo. Uma outra vantagem destas técnicas, é o fato de permitirem fazer uma análise multivariada a diferentes variáveis para as matérias-primas (p.e. cor, humidade e tamanho de partícula), e também para o processo (p.e. humidades e doseamentos, temperatura), permitindo depois visualizar e controlar a influência dessas variáveis durante o processo e no produto final. O grande objetivo destas ferramentas é facilitar o processo em contínuo, aumentar a automatização, reduzir o tempo de produção, prevenir a rejeição de lotes e permitir a libertação paramétrica (*real-time release*) [Wartewig and Neubert, 2005]. Ao mesmo tempo que o processo produtivo se encontra em execução controlado por processos PAT, é também necessária a existência de um sistema informático de gestão que controle estas tecnologias e onde seja possível retirar e inserir informação. Estes sistemas integrados de gestão permitem aos utilizadores, a consulta e controlo em tempo real do estado do processo produtivo. Ao mesmo tempo, estes sistemas têm outras valências, como a gestão de “stocks” de matérias-primas, a gestão da faturação ou a gestão do aprovisionamento. É necessário assim um sistema integrado global, que preste informação sobre todos os aspectos quer em termos processuais, gestão de informação e regulamentares (cGMP) [Gunasekaran and Ngai, 2004]. Hoje em dia, é com os dados presentes nestes sistemas informáticos que é possível fazer o planeamento das campanhas de produção de um determinado produto,

sendo possível teorizar com grande nível de confiança a previsão da duração da campanha, volume de matérias-primas necessárias, tempos requeridos por processo por equipamento, mão-de-obra necessária, custos associados à produção, rendimentos, entre outros. A função de planeamento e controlo da produção numa empresa industrial, possui como objetivos globais, os seguintes [Assis, 1998]:

- determinar datas possíveis de entrega de encomendas a clientes;
- manter informações permanentemente atualizadas sobre o estado de avanço das várias encomendas;
- minimizar os volumes de “stocks” em curso de fabrico;
- regularizar a carga sobre os vários postos de trabalho de forma a evitar estrangulamentos e tempo extraordinário;
- sequenciar as ordens de fabricação nos vários postos de trabalho de acordo com regras de prioridade e
- minimizar o tempo que uma ordem de fabrico permanece em filas de espera.

Estes objetivos serão permanentemente perseguidos num quadro caracterizado por diferentes restrições [Assis, 1998]:

- limitações de capacidade de recursos;
- disponibilidades de material;
- atrasos de fabricação (absentismo, avarias, rejeições) e
- alterações e urgências comerciais.

Para tal, o responsável do Planeamento e Controlo da Produção terá de procurar permanentemente os melhores compromissos entre aqueles objetivos – por vezes conflituosos entre si – tendo em conta aquelas restrições, revelando criatividade e dentro de princípios de racionalidade económica e harmonia social.

Nas operações de produção, é impossível fugir à elaboração de um planeamento. Este deve ser sistemático e eficiente. Ao invés, quando o planeamento não está estruturado ou não tem informação suficiente sobre os "inputs" do processo e os respetivos "outputs" desejados, surgirão consequências tanto produtivas como logísticas e económicas para a empresa (p.e. subutilização dos recursos, prazos de entrega mais longos, ou inventários maiores).

3.3 Espectroscopia de infravermelho: conceitos básicos

A espectroscopia vibracional engloba fundamentalmente o infravermelho próximo (NIR), infravermelho médio (MIR), Raman e Terahertz (THz). Como o próprio nome indica, a espectroscopia vibracional utiliza a região espectral compreendida entre os 1300 cm^{-1} e os 3 cm^{-1} associada à vibração das ligações moleculares. Recentes avanços tecnológicos ao nível da computação e matemático permitiram a estas técnicas começarem a serem largamente utilizadas em diferentes ramos industriais como nas indústrias alimentar, química, petroquímica, têxtil, biotecnológica e farmacêutica. Na indústria farmacêutica, a frequência do uso destas técnicas, em particular a espectroscopia NIR, tem vindo a aumentar nos últimos anos, pois as suas aplicações são vastas, como por exemplo a análise quantitativa e qualitativa às matérias-primas, produtos intermédios e produto acabado, assim como monitorização de produto em processamento [Gendrin et al., 2008b, McGoverin et al., 2008]. O termo espectroscopia designa métodos analíticos, em que se estuda a interação de radiações eletromagnéticas com as moléculas. A ligação de dois átomos em moléculas envolve diferentes tipos de energia, tais como energia translacional, vibracional e eletrónica. No caso da espectroscopia de infravermelho, esta tem por base os movimentos relativos dos átomos numa molécula, isto é, as suas vibrações. Assim, esta espectroscopia deteta a radiação que é absorvida pelas ligações vibracionais moleculares [Almeida, 2009]. As vibrações moleculares podem ser classificadas em dois tipos: vibração de deformação axial (stretching) e vibração de deformação angular (bending). As deformações axiais ou por estiramento são oscilações radiais das distâncias entre os núcleos, e as deformações angulares envolvem mudanças dos ângulos entre o plano que contém a ligação e um plano de referência. Podem ocorrer transições entre os níveis vibracionais, quando se dá alterações do momento dipolar devido à variação de distribuição eletrónica em redor das ligações, isto é, quando se aplica um campo elétrico com energia

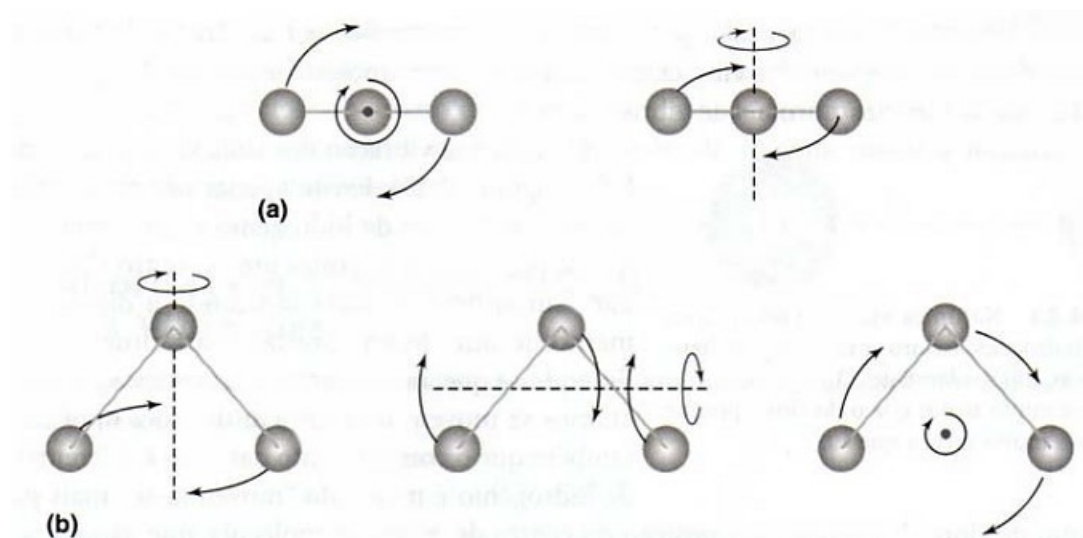


Figura 3.1: Vibrações fundamentais para uma molécula linear (a) e para uma molécula não linear (b).

adequada. O momento dipolar é determinado pela magnitude das diferenças de cargas e a distância entre dois centros de carga. Para que ocorram alterações do momento dipolar, as moléculas diatômicas têm de ser heteronucleares, podendo só assim ser excitadas vibracionalmente. Moléculas poliatômicas com vibrações assimétricas podem também ser excitadas [Almeida, 2009]. A vibração de uma molécula poliatômica pode ser considerada como um sistema de oscilações. Se existirem N núcleos atômicos na molécula, existirão um total de $3N-5$ graus vibracionais de liberdade para moléculas lineares (Figura 3.1a) e $3N-6$ graus vibracionais de liberdade para moléculas não lineares (Figura 3.1b).

Estes graus internos de liberdade correspondem ao número de modos de vibração normais. Um modo vibratório apenas é ativo no infravermelho, se alterar o momento dipolo elétrico da molécula. Por outro lado, um modo vibratório é ativo no Raman, se mudar a polarização elétrica da molécula. A posição e intensidade de uma banda vibratória é característica do movimento molecular subjacente e consequentemente dos átomos que participam na ligação química, da sua conformação, e do seu ambiente próximo. Assim, um determinado grupo submolecular, produz bandas características numa determinada região do espectro [Wartewig and Neubert, 2005].

3.4 Espectroscopia de infravermelho próximo (NIR)

A região NIR ($13000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$) está situada entre a banda vermelha da luz visível e a região MIR. A radiação NIR foi descoberta pelo astrónomo inglês Sir Wiliam Hershel que em 1800 separou o espectro eletromagnético através de um prisma e descobriu que a temperatura aumentava significativamente na zona perto da banda vermelha do espectro visível, a que hoje se chama região NIR [Hart et al., 1962]. O desenvolvimento de equipamento mais avançado eletronicamente, e com melhores componentes óticos, e com a chegada de novos computadores mais potentes capazes de processar a informação contida nos espectros NIR, facilitou a expansão desta técnica num número crescente de indústrias e de campos de investigação [Blanco and Villarroya, 2002]. Atualmente a espectroscopia NIR tem vindo a ganhar notoriedade dentro da indústria farmacêutica na análise de matérias-primas, no controlo de qualidade do produto acabado, e na monitorização de processos. Este interesse crescente na espectroscopia NIR é provavelmente resultado das suas vantagens em relação a outras técnicas analíticas, como a não necessidade de pré-tratar a amostra, permitindo a sua reutilização depois da análise. A espectroscopia NIR é um método de análise rápido, um único espectro pode ser tirado numa questão de segundos, e a utilização de sondas de fibra ótica, permite a possibilidade de separar fisicamente a amostra do espectrofotómetro (muito importante para análises de processos inline e online). Apenas com um espectro, é possível prever simultaneamente propriedades químicas e físicas da amostra [Reich, 2005]. A espectroscopia NIR tem também as suas desvantagens. As principais dificuldades da técnica é a complexidade de interpretação e utilização do seu sinal (espectros) assim como o seu relativo alto limite de deteção. Para além disso é uma técnica pouco eficiente para analisar substância com elevado conteúdo em água como o sejam soluções aquosas devido à elevada absortividade da molécula de água. São matrizes complexas, onde podem ocorrer sobreposições de bandas, levando a dificuldades para retirar informação dos espectros através de uma análise univariada. Devido ao fato de o espectro ser afetado pelas características químicas e físicas da amostra, a sua interpretação ainda se torna mais complexa. A espectroscopia NIR é uma técnica não seletiva, e para ser retirada a informação relevante pretendida dos espectros, têm de ser utilizados métodos quimiométricos [Luypaert et al., 2007].

3.4.1 Instrumentação NIR

Existem vários tipos de instrumentos que podem ser utilizados para obter um espectro infravermelho. Os instrumentos convencionais de infravermelho, consistem numa fonte produtora de radiação que inclui o espectro infravermelho. Num sistema dispersivo, o feixe de radiação de saída é disperso por um prisma numa fenda que bloqueia tudo menos uma estreita gama de frequências de atingirem o detetor. Assim a resolução depende da largura dessa fenda. O resultado é um espectro infravermelho de baixa intensidade tornando o método altamente insensível. A técnica de infravermelho, denominada transformada de Fourier (FTIR) que possui vantagens sobre o método convencional em termos de largura de banda espectral, resolução e sensibilidade para análises estáticas ou dinâmicas (ao longo do tempo). O sistema mais comum de FTIR é o interferómetro de Michelson [Reedy and Mossoba, 1999]. Neste sistema, a radiação da fonte luminosa é dividida em dois feixes iguais através de um divisor de feixe. Um dos feixes segue em direção a um espelho de posição fixa no qual reflete de volta para o divisor, e aqui volta a dividir-se e parte desta vai para o detetor. O outro feixe parte do divisor em direção ao espelho móvel, este espelho também reflete, ocorrendo nova divisão e parte da radiação segue também para o detetor, conseguindo assim com rapidez, produzir um sinal de interferência que pode ser decomposto através de um processamento matemático em todos os comprimentos de onda. À medida que o espelho móvel percorre determinada distância, um interferograma é formado com a recombinação dos dois feixes (Fig. 3.2). Deste modo um interferograma é formado pela soma de todas as ondas de diferentes amplitudes e frequências que chegam ao interferómetro. Contudo, apesar de o interferograma conter toda a informação fornecida pelo espectrofotómetro, a forma como a apresenta não é muito útil. Esta informação (o interferograma) é convertida num espectro, relacionando as intensidades com as respetivas frequências, através de uma transformada inversa de Fourier [Almeida, 2009].

Os instrumentos NIR com transformada de Fourier têm quatro principais vantagens [Bakeev, 2005]:

1. O instrumento apresenta poucos elementos óticos e não necessita de fenda (vantagem de Jacquinot). A potência da radiação que chega ao detetor é maior do que nos instrumentos dispersivos e são observadas maiores relações sinal/ruído.

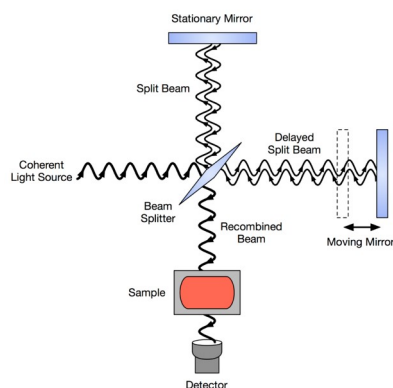


Figura 3.2: Diagrama esquemático de um interferômetro de Michelson configurado para FTIR.

2. Todos os sinais da fonte alcançam o detetor simultaneamente (vantagem de Fellgett ou multiplex). Essa característica torna possível a obtenção de todo o espectro de uma só vez e, com essa poupança de tempo, é possível aumentar o número de leituras para aumentar a razão sinal/ruído.
3. Maior exatidão nas frequências (vantagem de Connes), pois mesmo que o espelho móvel tenha pequenas alterações de velocidade, o seu percurso é calibrado com grande precisão por um laser de Hélio-Néon.
4. A quarta vantagem está associada à imunidade do detetor à luz difusora. O detetor olha apenas para o sinal gerado pelo modulador de transformada de Fourier, de modo a que a luz externa não tem impacto.

3.5 Quimiometria

O uso de computadores para analisar dados químicos cresceu drasticamente nos últimos vinte anos, em parte devido aos recentes avanços em "hardware" e "software". Por outro lado, a aquisição de dados principalmente na área da química analítica, atingiu um ponto bastante sofisticado com a ligação de instrumentos aos computadores produzindo uma enorme quantidade de informação, muitas vezes complexa e de natureza variada. Uma das características mais interessantes de alguns instrumentos de medição recentes é o número de variáveis que

podem ser medidas através de uma única análise numa amostra. Um exemplo é a intensidade de absorção em mil ou mais comprimentos de onda que é rotineiramente registada num único espectro. Com esta quantidade de dados, a necessidade de ferramentas de tratamento de dados mais sofisticadas cresceu muito rapidamente, dando origem à quimiometria, que é uma área especificamente destinada à análise de dados químicos de natureza multivariada. A quimiometria não é uma disciplina da matemática, mas sim da química, isto é, os problemas que ela se propõe a resolver são de interesse e originados na química, ainda que as ferramentas de trabalho provenham principalmente da matemática, estatística e computação. As ferramentas quimiométricas são veículos que podem auxiliar os químicos a moverem-se mais eficientemente na direção de mais conhecimento. Isto leva a uma definição formal de quimiometria como sendo uma disciplina química que emprega métodos matemáticos e estatísticos para planejar ou selecionar experiências de forma otimizada e para fornecer o máximo de informação química com a análise dos dados obtidos [Vandeginste, 1987]. A quimiometria tem várias aplicações, entre elas a químio-informática, bioinformática, análise de imagens, sensores e micro estruturas. Sendo uma das principais áreas de aplicação a análise de espectros NIR, o uso da quimiometria implica a utilização de algoritmos e técnicas multivariadas no pré-tratamento dos espectros NIR, no desenvolvimento de métodos qualitativos e quantitativos, na seleção de amostras para o conjunto de calibração e conjunto de validação e ainda na identificação de amostras anómalas.

3.5.1 Pré-processamento espectral

O pré-processamento é definido como qualquer manipulação matemática antes de qualquer análise preliminar. Tendo como finalidade reduzir fontes de variação irrelevantes ou não informativas e tratar as matrizes de dados para tornar a informação melhor condicionada antes da modelação, ou seja, remover matematicamente fontes de variação indesejáveis (que não estão relacionadas com o parâmetro de interesse) que não serão removidas naturalmente durante a análise dos dados. O tratamento dos dados é aplicado antes da fase de calibração para melhorar a eficiência do método. Contudo, esta etapa de pré-tratamento deve ser realizada com todo o cuidado, uma vez que, informações espectrais relevantes, podem ser significativamente removidas ou alteradas/adulteradas. Os dados espectrais, para além da informação de interesse químico, físico e biológico, contêm também informação não rele-

vante, interferências e ruído instrumental. Podem ocorrer distorções espectrais causadas pelo espectrofotómetro, p.e., efeitos causados pela saturação do detetor e falhas no varrimento dos comprimentos de onda. Outras fontes de perturbação podem ocorrer devido a variações no percurso ótico ou temperatura. Em sólidos podem também surgir problemas devidos à dispersão de luz no caso de amostras com deficiente homogeneização ou variação de tamanho de partícula [Siesler et al., 2002]. De forma a reduzir o impacto da informação não relevante, deve ser aplicado um pré-tratamento aos espectros antes da sua análise. Estas correções são designadas de pré-processamento, pois são aplicadas antes da análise multivariada ser feita e consistem na aplicação de um ou mais métodos corretivos.

Derivadas

Para dados espectroscópicos cujos comprimentos de onda são expressos como propriedades físicas contínuas, as derivadas podem ser utilizadas para aumentar a resolução e para remover efeitos aditivos da linha de base. Variações na linha de base produzem variações não desejáveis nas absorbências. Assim é importante eliminar variação causada pela linhas de base antes da qualquer calibração. A primeira derivada retira os efeitos aditivos na linha de base e evidencia características menores do espectro, enquanto a segunda derivada é o declive da primeira derivada que quando aplicada remove a linha de base. Como a aplicação de derivadas pode amplificar o ruído no espectro, estas são normalmente utilizadas com filtros de sinal, como o filtro de Savitzky-Golay, que permite o cálculo de derivadas e ao mesmo tempo reduz o ruído do sinal. A eliminação de ruído é uma técnica de manipulação espectral utilizada para diminuir o ruído aleatório. A filtragem de sinal apenas deve ser aplicada a dados com muito ruído, de forma a que a diminuição desse ruído possa compensar a perda de informação espectral que esse processo acarreta [Naes et al., 2002, Savitzky and Golay, 1964].

Correção multiplicativa de sinal

O método de correção multiplicativa de sinal (MSC), do inglês *Multiplicative Scattering Correction*, é muito aplicado em espectroscopia para a correção de flutuações de linha de base, proveniente principalmente da não homogeneidade da distribuição de partículas na matriz (em amostras sólidas). Este método assume que os comprimentos de onda da luz espalhada possuem uma dependência distinta entre a luz espalhada e a absorvida pelos constituintes

da amostra. Portanto teoricamente, é possível separar estes dois sinais. Este método tenta remover o efeito do espalhamento pela linearização de cada espectro por um espectro ideal. Para efeito de cálculo, considera-se que o espectro ideal é o espectro médio do conjunto de amostras para o qual se deseja realizar a correção da linha base. Em seguida, utiliza-se uma regressão linear para calcular o coeficiente angular e linear entre o espectro ideal e o espectro que vai ser corrigido. O espectro corrigido é calculado subtraindo cada ponto do espectro pelo valor do coeficiente linear e dividindo este valor pelo coeficiente angular. A partir do conjunto total de espectros, calcula-se o espectro médio \bar{x} . Faz-se a regressão linear para cada um dos k espectros $x_{i,k}$ do conjunto total de espectros, contra o espectro médio, sobre todos os comprimentos de onda i (Eq. 3.1):

$$x_{i,k} = v_k \bar{x}_k + \mu_k \quad (3.1)$$

Onde v_k é o coeficiente linear e μ_k é o coeficiente angular (Equação 3.2).

$$x'_{i,k} = \frac{x_{i,k} - \mu_k}{v_k} \quad (3.2)$$

Variação de padrão normal

O método da variação de padrão normal, também designado por (SNV do inglês *standart normal variate*) é conceptualmente e empiricamente relacionado com o método da correção multiplicativa de sinal. Neste método, cada espectro individual é centrado e dimensionado. Este método tem como princípio, centrar cada espectro em torno de zero, por subtração da média e divisão pelo desvio de padrão em todos os pontos do espectro. Se se considerar $x_{i,j}$ como as medições do espectro ao comprimento de onda j para a amostra i , o valor transformado de $x_{i,j}$ ($x'_{i,j}$) é dado pela Eq. 3.3,

$$x'_{i,j} = \frac{x_{i,j} - \bar{x}_i}{\sigma_i} \quad (3.3)$$

Na Eq. 3.3, \bar{x}_i é a média do comprimento de onda j para a amostra i e σ_i é o desvio padrão para o comprimento de onda j . A principal diferença entre os métodos de variação de padrão normal e de correção multiplicativa de sinal, é que o método de variação de padrão normal padroniza cada espectro utilizando apenas informação desse mesmo espectro [Beebe et al., 1998].

3.5.2 Análise multivariada

A análise multivariada consiste na aplicação de modelos matemáticos capazes de lidar com múltiplas fontes de informação ou variáveis em simultâneo. Pode por exemplo servir para a construção de modelos matemáticos para relacionar a informação obtida por um instrumento analítico (medidas instrumentais multivariadas) com concentrações dos analitos ou outras propriedades das amostras. Os métodos multivariados são adequados para estimar a solução de problemas em química analítica envolvendo instrumentação geradora de informação multidimensional porque permitem acomodar várias variáveis ao mesmo tempo, não importando a existência de correlação entre os dados [Barnes et al., 1989].

Atualmente existem vários métodos para análise multivariada. Nesta Tese foram utilizados a análise componentes principais (PCA) (método não supervisionado) assim como métodos de regressão (também designados por métodos supervisionados) pelo que serão estes os descritos em mais detalhe. Exemplos dos mais utilizados: regressão linear múltipla (MLR), regressão por componentes principais (PCR) e regressão por mínimos quadrados parciais (PLS). Estes métodos permitem ajustar modelos lineares entre um conjunto de variáveis independentes e um conjunto de variáveis dependentes. A utilização do ajuste linear entre variáveis é bastante frequente na maioria dos métodos de análise multivariada por serem modelos de fácil identificação e interpretação [Beebe et al., 1998].

Análise de componentes principais

A análise de componentes principais (PCA do inglês *principal component analysis*) permite a redução da dimensionalidade de um conjunto de dados através da representação num novo sistema de eixos, denominados componentes principais (PC). No espaço original, as amostras são pontos localizados num espaço n -dimensional, frequentemente de difícil interpretação especialmente quando o número de dimensões (número de variáveis) é elevado. Com a redução de dimensionalidade proporcionada pelo método PCA, as amostras passam a ser localizadas em espaços reduzidos, por exemplo, bi- ou tri-dimensionais. Matematicamente, na análise de componentes principais, a matriz X é decomposta num produto de duas matrizes, denominadas componentes principais (*scores*, T), pesos (*loadings*, P) e resíduos (E), como ilustrado na Eq. 3.4.

$$X = TP^t + E \quad (3.4)$$

Os *scores* representam as coordenadas das amostras no sistema de eixos formados pelos componentes principais. Cada PC é obtido através de uma combinação linear entre as variáveis originais e os coeficientes do modelo denominados por pesos (*loadings*). Matematicamente, os *loadings* são os cossenos dos ângulos entre as variáveis originais e as componentes principais, representando, portanto, o quanto cada variável original contribui para uma determinada PC. A primeira componente principal (PC1) é traçada no sentido da maior variação no conjunto de dados; a segunda (PC2) é gerada de forma ortogonal à primeira, com o intuito de descrever a maior percentagem da variação não explicada pela PC1, e assim por diante. Enquanto os *scores* representam as relações de similaridade entre as amostras, os *loadings* indicam a contribuição de cada variável para a formação das PC. Através da análise conjunta do gráfico de *scores* e *loadings*, é possível verificar que variáveis são responsáveis pelas diferenças observadas entre as amostras. O número de PC a ser utilizado no modelo PCA é determinado pela percentagem de variância explicada pelas PC. Existem vários métodos passíveis de estimar o número de componentes principais a utilizar em cada situação. Alguns autores baseiam esse método na simples análise da percentagem de variância capturada enquanto outros recomendam aceitar todas as componentes cujo valor próprio associado seja superior a 1. O método mais universalmente aceite é de que devem ser utilizados todas as PC que sejam estatisticamente significativas, havendo por isso que estimar esse valor. Contudo, a forma mais utilizada na prática consiste em modelar os dados utilizando um número de PC capaz de reter uma quantidade significativa de variância (p.e. mais de 90%) e analisar esses dados em gráficos de *scores* bi- ou tri-dimensionais [Beebe et al., 1998].

Regressão linear múltipla

A regressão linear múltipla (MLR) é considerada a mais simples e mais fácil de interpretar entre as técnicas de regressão multivariada. As informações disponíveis contidas nas variáveis independentes (matriz X) são aplicadas diretamente no processo de modelação para prever o(s) parâmetro(s) de interesse (vetor y ou no caso de múltiplas respostas, a matriz Y), ou seja, as variáveis independentes originais são utilizadas. Na construção de modelos MLR,

toda a informação contida nas variáveis independentes é utilizada, nisso incluído o ruído assim como informação não relevante. No modelo MLR assume-se que o parâmetro a ser determinado (y) é função linear das respostas instrumentais (matriz X). O modelo pode ser escrito em notação matricial (Eq. 3.5), onde b é o vetor dos coeficientes de regressão e e é o vetor dos resíduos.

$$y = Xb + e \quad (3.5)$$

O modelo MLR é estimado através do algoritmo de mínimos quadrados, conforme a Eq. 3.6.

$$b = (x^t x)^{-1} x^t y \quad (3.6)$$

A regressão linear múltipla apresenta alguns problemas que limitam a sua aplicação. Um desses problemas é que o número de amostras deve ser igual ou superior ao número de variáveis, uma vez que o modelo consiste na resolução de um sistema de equações lineares simultâneas. Essa condição necessita de ser satisfeita, pois caso contrário, o sistema torna-se indeterminado [Beebe et al., 1998, Naes et al., 2002]. Por outras palavras, apenas sistemas bem condicionados são passíveis de ser estimados por MLR, o que limita bastante esta técnica na prática (p.e., em situações em que se utilizam dados espectrais como variáveis independentes a técnica de MLR é geralmente inadequada).

Regressão por mínimos quadrados parciais

A regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) é considerado o método de regressão mais utilizado para a construção de modelos de calibração multivariada a partir de dados de primeira ordem. Este método de calibração não requer um conhecimento exato de todos os componentes presentes nas amostras podendo realizar previsões mesmo na presença de interferências, desde estejam presentes durante a construção do modelo [Beebe et al., 1998]. A regressão por mínimos quadrados parciais utiliza informações do conjunto de dados independentes (p.e., uma matriz espectral) aqui designados por matriz X e correlaciona-as com a informação presente num conjunto de dados de referência aqui designado vetor y [Geladi and Kowalski, 1986]. De uma forma geral, o método PLS decompõe as matrizes de variáveis

independentes X (Eq. 3.7) e a matriz de variáveis dependentes Y no caso do algoritmo PLS-2 ou o vetor y no caso do algoritmo PLS-1 (Eq. 3.8) num novo sistema de eixos (variáveis latentes ou fatores), representando os dados num menor número de dimensões, sem que haja perda de informação analítica relevante. As novas coordenadas da amostra são denominadas *scores* (T e U) e os pesos com que cada variável original contribui para formar as componentes principais são chamados de *loadings* (P e Q). Posteriormente, realiza-se uma regressão entre as matrizes de *scores* (3.9) das variáveis dependentes e independentes através de uma regressão linear simples [Naes et al., 2002].

$$X = TP^t + E \quad (3.7)$$

$$Y = UQ^t + E \quad (3.8)$$

$$U = bT \quad (3.9)$$

Processamento matricial

Antes da utilização de um conjunto de dados em modelos do tipo PCA ou PLS, estes devem no mínimo ser centrados na média (em alguns casos o centro na média e a divisão pela variância é o indicado). A centralização na média consiste em fazer com que, para cada variável, os seus valores tenham média zero. Para centrar os dados na média, obtêm-se, para cada coluna (se as linhas corresponderem a amostras e as colunas a comprimentos de onda), o valor médio e, em seguida, subtrai-se esse valor à coluna respetiva. Desta forma, ocorre a mudança do sistema de coordenadas para o centro dos dados. Nesta função, cada elemento $x_{i,j}$ (i = amostra e j = comprimento de onda ou variável) é subtraído pela média dessa variável obtida a partir de todas as amostras. A operação de remoção da média é calculada através da Eq. 3.10.

$$x'_{i,j} = x_{i,j} - \bar{x}_j \quad (3.10)$$

Na Eq. 3.10, \bar{x}_j representa a média da variável relativa ao comprimento de onda j considerando todas as amostras. Esse valor é calculado de acordo com a Eq. 3.11, onde I representa o número total de amostras [Beebe et al., 1998].

$$\bar{x}_j = \frac{\sum_{i=1}^I x_{i,j}}{n} \quad (3.11)$$

Validação de modelos de regressão multivariada

A validação de um modelo de regressão multivariada é um passo importante para assegurar a validade da estimativa dos coeficientes. A validação é especialmente importante no caso dos modelos PCR e PLS uma vez que são tipicamente usados em situações onde o número de graus de liberdade é elevado, o que na prática significa uma maior dificuldade em estimar a “verdadeira” solução para o modelo, havendo frequentemente múltiplas soluções semelhantes e para as quais é preciso determinar a mais adequada. Um bom modelo será aquele que consegue generalizar melhor, ou seja, em que o seu desempenho a prever situações não utilizadas durante a calibração seja ótimo. De forma a decidir o número de componentes de um modelo (o parâmetro a ser otimizado) pode ser usado um critério de erro, por exemplo a raiz quadrada do erro quadrático médio (*RMSE*). Este parâmetro mede a diferença entre os valores de referência e os valores previstos pelo modelo. O parâmetro *RMSE* está definido na Eq. 3.12, onde I é o número de amostras, \hat{y}_i o valor previsto pelo modelo para a amostra i e y_i o valor experimental para a mesma amostra.

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^I (y_i - \hat{y}_i)^2}{I}} \quad (3.12)$$

Erro de calibração A raiz quadrada do erro quadrático médio de calibração (*RMSEC*) é uma medida que indica o ajuste do modelo aos dados de calibração. Esta medida é definida pela Eq. 3.13.

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{I-A-1} (y_i - \hat{y}_i)^2}{I}} \quad (3.13)$$

Na Eq. 3.13, \hat{y}_i é o valor valor previsto pelo modelo para a amostra i e A é o número utilizado de variáveis latentes (os restantes são como indicado para a Eq. 3.12). Esta é uma estimativa do erro do modelo e não do erro preditivo.

Validação interna: validação cruzada Um dos métodos mais usados na escolha do número de fatores (ou componentes principais) é a validação cruzada. Este procedimento utiliza um conjunto de calibração para em simultâneo calibrar e validar. Uma forma comum deste método consiste no procedimento *leave-one-out* que consiste em promover várias calibrações em que em cada caso uma amostra diferente é deixada de fora. Essa amostra é depois usada para testar o modelo. Prossegue-se este procedimento até que todas as amostras tenham sido excluídas uma vez. Posteriormente compara-se os valores previstos com os valores de referência e determina-se o erro, permanecendo o modelo que gerou um menor erro para as amostras projetadas (as que foram deixadas de fora). O erro obtido por esta validação é denominado por raiz quadrada do erro quadrático médio de validação cruzada (*RMSECV*). O *RMSECV* está definido na Eq. 3.14.

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^I (y_i - \hat{y}_{cv,i})^2}{I}} \quad (3.14)$$

Na Eq. 3.14, $\hat{y}_{cv,i}$ são os valores previstos baseados no modelo de calibração com a amostra i subtraída. Um bom modelo deverá ter baixos valores de *RMSECV*. Existem outras formas de proceder neste método, como por exemplo deixando blocos de amostras de fora (contíguas ou seleccionadas aleatoriamente) de cada vez.

Validação externa Na validação externa, o conjunto de dados é dividido em dois conjuntos, um conjunto para calibração e um conjunto para teste. Neste caso, é utilizada a raiz quadrada do erro quadrático médio de previsão (*RMSEP*) (Eq. 3.15). Neste caso \hat{y}_i o valor previsto da amostra de teste i e I o número de amostras no conjunto de teste.

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^I (y_i - \hat{y}_i)^2}{I}} \quad (3.15)$$

O método *RMSEP* deve ser utilizado para testar o desempenho final do modelo, enquanto o método *RMSECV* é utilizado para otimizar a arquitetura do modelo. Assim, a validação cruzada deve ser utilizada isoladamente em situações em que não existe número de amostras suficientes para que seja dividido entre o grupo de calibração e validação. Em situações em que existam número de amostras suficientes será sempre vantajoso o uso de

um conjunto externo, uma vez que permite de forma mais eficiente avaliar o desempenho do modelo numa situação real.

3.6 Estudos anteriores

Existem diversas fontes bibliográficas que utilizam os conceitos de delineamento experimental, análise quimiométrica e espectroscopia NIR para análise de formulações farmacêuticas de diversos tipos. A espectroscopia NIR é mais relevante na análise de formas sólidas e por isso seleccionada neste trabalho. O Livro "Process Analytical Technology - spectroscopy tools and implementation strategies for the chemical and pharmaceutical industries" [Bakeev, 2005] contém uma muito completa revisão bibliográfica sobre o assunto que se mantém atual. O grupo de investigação onde desenvolvi o trabalho tem sido ativo neste campo tendo várias publicações neste campo específico [Sarraguça and Lopes, 2009, Sarraguça et al., 2010, Sarraguça et al., 2011, Lopes et al., 2004].

A criação de modelos que permitam a quantificação dos ingredientes das formulações em-linha a partir de dados de espectroscopia, tem tido grande aceitação como Amigo et al. (2009) [Amigo and Ravn, 2009]. O uso de métodos espectroscópicos têm sido também utilizados como recurso para se atingir a libertação paramétrica [Pestieau et al., 2014].

3.7 Descritivo da empresa

Lecifarma – Laboratório Farmacêutico Lda. é uma empresa farmacêutica sediada em Loures, perto de Lisboa, Portugal. Foi fundada em 1995 e tem como principal atividade, a produção de medicamentos, suplementos alimentares, dispositivos médicos e cosméticos. A Lecifarma desenvolve formulações de acordo com as especificações acordadas, e possui capacidade para produzir uma grande variedade de formas farmacêuticas, entre as quais pós/granulados, cápsulas, comprimidos, drageias, emulsões, pastas, soluções e suspensões. A Lecifarma possui também capacidade para produzir extratos líquidos e tinturas de plantas e frutos. A Lecifarma mantém elevados padrões de garantia de qualidade no tocante ao desenvolvimento, fabrico e controlo de medicamentos e fabrica os seus produtos de forma a garantir que são adequados ao fim a que se destinam, estão em conformidade com os requisitos da Autoriza-

ção de Introdução no Mercado (caso exista) e não constituem risco para os doentes devido a segurança, qualidade ou eficácia inadequadas. De modo a alcançar com segurança o objetivo da qualidade, existe um sistema de Garantia de Qualidade concebido de forma abrangente e implementado corretamente, que incorpora a gestão das Boas Práticas de Fabrico, do Controlo da Qualidade e do Risco de Qualidade. Organizacionalmente, a Lecifarma tem quatro direções principais, a direção fabril, a direção comercial/marketing, a direção de recursos humanos e a direção financeira. Em termos práticos de fabrico, todo o processo produtivo está sob a alçada da direção fabril que coordena a direção de produção e a direção de garantia da qualidade, e que tem a responsabilidade de garantir que todo o processo produtivo está de acordo com as GMP. A lecifarma compromete-se a agir de forma socialmente responsável. O envolvimento em projetos sociais, a consideração para com os colaboradores e as suas famílias, e assegurar igualdade de oportunidades a todos os empregados. Cooperação e respeito mútuos, bem como a proteção do ambiente e a sustentabilidade, constituem fatores intrínsecos de todas as atividades da empresa.

3.7.1 Produção

A empresa Lecifarma, devido à quantidade de diferentes produtos que fabrica e ao antigo equipamento de que dispõe, fabrica apenas através de processo descontínuo. O fabrico é efetuado por fases, e por secções. Existem duas grandes secções, o fabrico e a embalagem. O fabrico está dividido em fabrico de sólidos; em fabrico de líquidos e semi-sólidos e em embalagem primária. A embalagem contempla a embalagem secundária. Como descrito, o processo produtivo de um determinado produto é faseado. Para se produzir, por exemplo, um produto final composto por uma embalagem com um certo número de comprimidos em blister, são necessárias quatro fases principais (não contando com a pesagem). Estas fases compreendem a granulação/mistura, compressão, embalagem primária e embalagem secundária. Estas fases são independentes umas das outras, e são feitas temporalmente, de acordo com as necessidades. Cada fase uma vez completa, é analisada pelo controlo de qualidade e (se aprovada) é depois armazenada no armazém de produto intermédio até ser utilizada na fase seguinte. Desta forma, o tempo de produção de um produto é bastante variável, dependendo da disponibilidade do equipamento e das prioridades da empresa.

Uma outra característica do processo produtivo da Lecifarma, é o facto de não haver

equipamentos informáticos junto das secções, para inserção/consulta de dados. Toda a informação de lote relativo ao processo é feita manualmente em folhas de papel. Existe um programa informático de gestão, o PHC (da empresa PHC). No entanto este programa encontra-se pouco afinado para as reais necessidades da empresa, e apenas é utilizado para a gestão de “stocks”, de faturação e de documentação. No fim do ciclo produtivo de um lote, a informação em papel a ele correspondente é depois passada para o PHC, pelo que fica disponível informaticamente, ficando disponível assim toda a informação sobre o processo produtivo em formato de papel, e em formato digital. Como mencionado anteriormente, devido ao facto de o “software” não estar devidamente formatado para as necessidades da empresa, esta informação digital é difícil de aceder e de ser tratada e estudada. O facto de a informação só ser inserida depois de o produto estar produzido, torna também impossível seguir o processo produtivo em tempo real. As dificuldades tecnológicas abordadas, aliadas ao grande número de produtos fabricados e desenvolvidos pela empresa, tornam impossível o planeamento, e a previsão da duração das campanhas, com confiança exigida. Assim o planeamento é feito por uma ou duas pessoas chave, que pelo facto de terem grande experiência e conhecimento sobre a realidade dos processos produtivos da empresa, e dos produtos a produzir, elaboram um plano semanal de produção, que preveem ser o mais indicado para as necessidades de fabrico. Este plano é pouco exato em relação à duração dos processos de fabrico. Não informa sobre quantas horas um determinado processo irá decorrer, apenas informa, em que parte do dia (p.e. manhã, tarde) o processo provavelmente estará concluído. Apesar de ser registado em “log-book” os tempos de fabrico respetivos de cada lote, e de esta informação ser introduzida informaticamente no “software” de gestão, pelo facto de o software não estar devidamente afinado, é muito difícil fazer um estudo sobre os tempos totais e parciais de cada fase necessários para o fabrico de um lote, impossibilitando assim, o cálculo do custo real de produção, sendo este calculado com base em estimativas.

3.7.2 Investigação e desenvolvimento

O departamento de investigação e desenvolvimento da Lecifarma é composto por dois farmacêuticos, sendo um deles o diretor do departamento. É função destes dois profissionais o desenvolvimento de fórmulas galénicas teóricas, a execução de lotes piloto de ensaio e o scale up desses ensaios piloto para lotes industriais. Devido ao facto de a Lecifarma não possuir

departamento de assunto regulamentares, também cabe a estes dois profissionais assumir em relação aos suplementos alimentares, toda as questões regulamentares a eles respeitantes. O desenvolvimento de um suplemento alimentar obedece a uma série lógica de procedimentos previamente estabelecidos. Tudo começa com um pedido de um cliente da Lecifarma de desenvolvimento de um produto. A partir daí, um dos farmacêuticos do departamento fica responsável pelo projeto, fazendo uma investigação sobre o novo produto, e desenvolvendo uma fórmula galénica teórica. A partir da fórmula galénica teórica, são calculados os custos teóricos necessários à produção industrial desse novo produto. Estes custos são reencaminhados ao departamento comercial, que entra em contacto com o cliente apresentado uma proposta de negócio. Caso o cliente aceite essa proposta, o desenvolvimento do produto avança para a produção de um lote piloto de teste. Os lotes pilotos são um teste à fórmula galénica, e esta pode ser alterada conforme os resultados dos testes farmacotécnicos. São executados os lotes pilotos necessários até se atingir um lote piloto que tenha todos os requisitos de qualidade. Quando a fórmula galénica estiver completamente definida e aprovada, é feita a transposição de escala (scale-up), e este é entregue ao departamento de produção, para a execução do lote industrial. A média de desenvolvimentos abertos na Lecifarma é de cerca de 150. Desses só cerca de 10% é que chegam a entrar em lotes piloto. Mensalmente a Lecifarma pode chegar a efetuar entre 10 e 20 lotes piloto. O departamento de investigação e desenvolvimento não possui equipamento próprio para a realização de lotes piloto; todos os lotes piloto têm de ser executados nos equipamentos da produção utilizados no fabrico dos lotes industriais. Este fato, obriga, a sempre que se tem de produzir um lote piloto, a ter de parar a produção dos lotes industriais. Considerando que em média por dia existem 0,5 a 1 lotes piloto para executar, e que o equipamento tem de ser limpo e modificado segundo o produto que vai ser produzido e que se obedece às GMPs, o processo de planeamento dos lotes pilotos e industriais, pode ser bastante complicado, o que obriga a um coordenação diária entre os departamentos de produção e investigação e desenvolvimento. Como foi referido, o número de desenvolvimentos é bastante elevado, acumulando ainda o departamento de I&D dos assuntos regulamentares referentes aos suplementos alimentares. Assim, de forma a ganhar algum tempo, no desenvolvimento de novos produtos não são feitos ensaios de pré-formulação. Por outro lado, pelas mesmas razões, dependendo das fórmulas farmacêuticas desenvolvidas, são quase sempre utilizados os mesmos excipientes variando apenas a quan-

tidade. Novos excipientes, ou outras abordagens de formulação, apenas são consideradas quando os lotes piloto apresentam não conformidades muito graves, o que acontece muito raramente.

3.8 Metodologia

De forma a produzirem-se comprimidos de elevado teor em Vitamina C, neste trabalho optou-se pelo processo de compressão direta. Optou-se pela compressão direta, pois este processo apresenta vantagens como a sua relativa simplicidade e rapidez, custos mais reduzidos, e maior rendimento. Uma vez escolhido o processo, seguiu-se a escolha dos excipientes a utilizar. Esta escolha seria feita de forma a que os excipientes a utilizar: 1) tivessem características específicas de compatibilidade físico-química, compactibilidade, fluidez, lubricidade e capacidade de proporcionar misturas uniformes, necessárias ao processo de compressão direta e 2) estivessem disponíveis nos “stocks” da Lecifarma e já houvesse dentro da empresa o “know-how” em relação à utilização dos mesmos em compressão direta. Com os excipientes escolhidos, desenvolveu-se então um delineamento experimental onde se estabeleceram quais os excipientes a variar. Estabeleceu-se também a quantidade de ensaios (diferentes comprimidos a produzir) e dentro de cada ensaio, a quantidade de cada excipiente a utilizar. Definida a abordagem metodológica teórica, passar-se-ia à abordagem prática do fabrico dos comprimidos. Uma vez pesadas as matérias-primas, procedeu-se à sua mistura. Foram definidas duas misturas, uma primeira onde se misturavam todas as matérias-primas à exceção do excipiente utilizado como lubrificante, e uma mistura final onde se misturaria a primeira mistura com o excipiente lubrificante. Devido ao facto de a quantidade de comprimidos a produzir ser muito baixa, e não ser exequível fazê-lo em equipamento industrial da Lecifarma, as misturas foram feitas manualmente. Estes tempos de mistura foram definidos com base na experiência dos operadores da Lecifarma, habituados a fazer misturas manuais para lotes de ensaio piloto. A metodologia usada neste trabalho, tentou ser o mais fiel possível à metodologia utilizada pelo departamento de investigação e desenvolvimento da Lecifarma na conceção de novos produtos. Assim sendo, neste trabalho não foram feitos testes de pré-formulação pois estes testes não são feitos no processo de desenvolvimento da empresa, e porque, o “know-how” da empresa em termos de excipientes e suas quantidades definidas

neste trabalho era tal, que podia prever a viabilidade das misturas com grande confiança para o processo de compressão direta. Feitas as misturas, proceder-se-ia à compressão para a obtenção dos comprimidos. Uma vez os comprimidos produzidos, realizar-se-iam os testes farmacotécnicos definidos (desagregação, dureza, friabilidade, uniformidade de massa, doseamento da vitamina C) e os testes espectralométricos (FT-NIR). A metodologia utilizada para a execução deste trabalho, encontra-se esquematizada na 3.3.

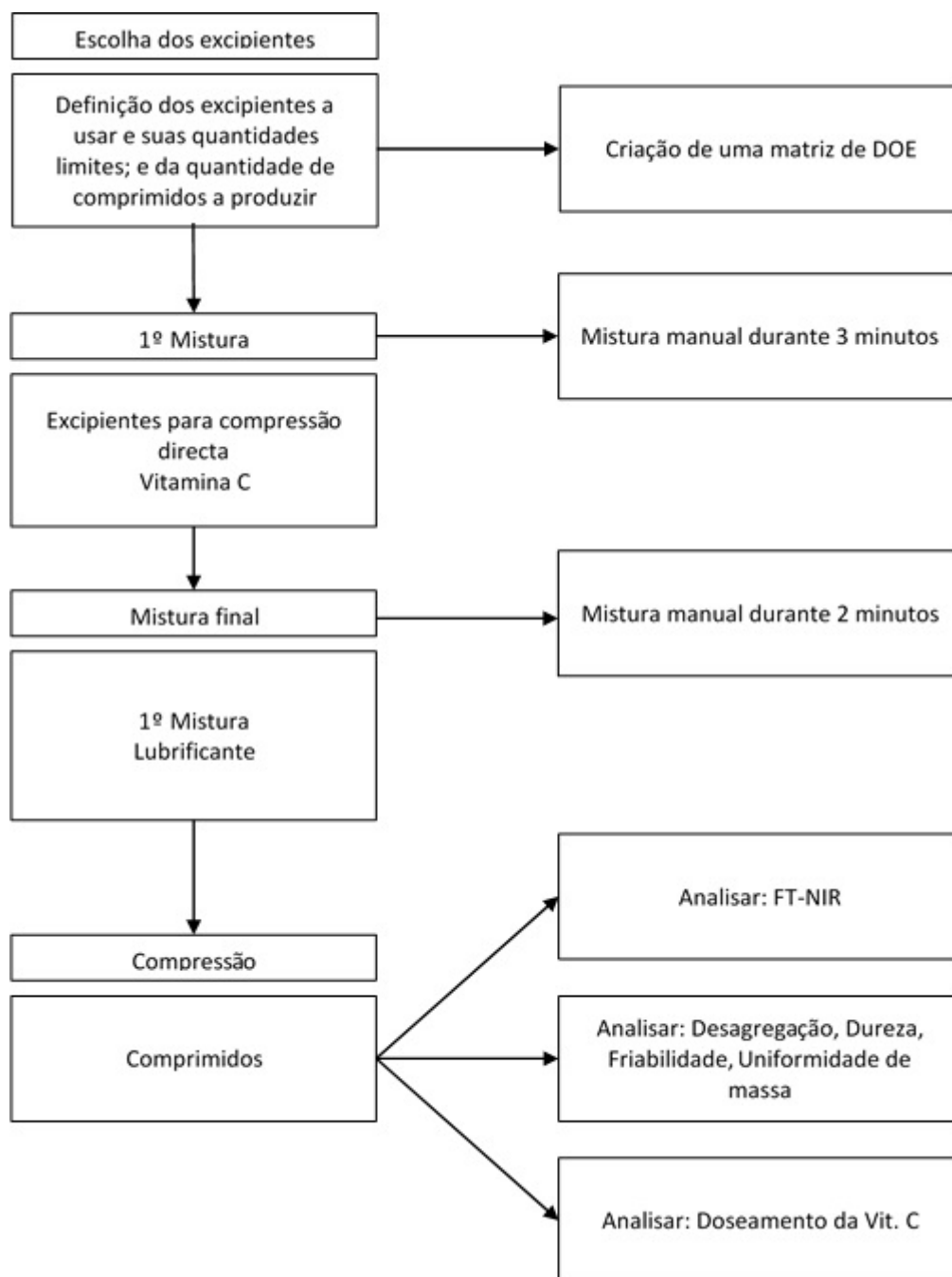


Figura 3.3: Esquema da metodologia a utilizar.

Capítulo 4

Materiais e métodos

4.1 Ingredientes

A escolha dos excipientes para o fabrico de comprimidos de alto teor em Vitamina C, baseou-se em três princípios fundamentais: 1) que os excipientes escolhidos tivessem as características necessárias para o método de compressão ser direto, 2) que estes estivessem disponíveis em “stock” suficiente na Lecifarma, e que o seu custo não fosse avultado e 3) que houvesse já um “know-how” da utilização destes excipientes por parte da empresa. Os excipientes escolhidos foram a celulose microcristalina com função de diluente, agregante e desagregante, a polivinilpirrolidona como agregante, o estearato de magnésio como lubrificante, e o sorbitol como diluente.

4.1.1 Ingrediente principal (Vitamina C)

O ingrediente principal da formulação é a vitamina C (Vit.C-ácido ascórbico). Este ingrediente é muito utilizado pela Lecifarma tanto em formulações sólidas como em formulações líquidas. Para o fabrico de formas sólidas, é usado um tipo especial de vitamina C, a vitamina C revestida. Este tipo de matéria-prima consiste no revestimento da vitamina C por uma camada de etil celulose (polímero hidrofóbico e insolúvel em água), proporcionando uma maior estabilidade à temperatura e aos processos mecânicos de compressão a que o ácido ascórbico está sujeito. Este tratamento também aumenta a escoabilidade do pó e o tempo de vida da mistura e do produto final, pois estando o ácido ascórbico revestido, não

irá reagir quimicamente com os outros constituintes da formulação. A vitamina C revestida apresenta-se como um pó microcristalino amarelo, não higroscópico, sem cheiro e com um sabor levemente ácido. A vitamina C utilizada, foi uma vitamina C revestida distribuída em Portugal pela empresa PRODUCTOS QUÍMICOS GONMISOL, S.A. Esta matéria-prima apresenta uma densidade aparente areada de 0,81 g/cm³ e uma densidade aparente batida de 0,97 g/cm³.

4.1.2 Excipientes

Celulose microcristalina

A celulose microcristalina (MCC) apresenta-se na forma de pó branco, inodoro, insípido, de fluxo relativamente livre e praticamente isenta de contaminantes orgânicos e inorgânicos, inerte e não tóxica. É insolúvel em água, ácidos diluídos e na maioria dos solvente orgânicos. É praticamente insolúvel em soluções de hidróxido de sódio [Merck-Research, 2001]. Devido às suas características de excelente compressibilidade, boa fluidez e boa desagregação, a celulose microcristalina é um dos excipientes mais utilizados em formulações de comprimidos, fabricados pelo processo de compressão direta [Edge et al., 2000]. A celulose microcristalina pode ser utilizada em todos os métodos de produção de comprimidos, desde a compressão direta até à granulação a húmido. Devido à sua elevada pureza química, e à sua baixa percentagem de humidade, melhora a estabilidade química e a cor dos comprimidos resultantes. As características que favorecem a elevada compressibilidade da celulose microcristalina são a sua alta deformação plástica, baixa fragilidade, baixa elasticidade e alta viscoelasticidade. A celulose microcristalina possui propriedades de diluente e de desagregante. Devido à capilaridade, a penetração mecânica de água para o interior de um comprimido contendo celulose microcristalina é favorecida. A água, uma vez no interior do comprimido, destrói as ligações de coesão das partículas provocando a desagregação do comprimido [Doelker, 1993]. A celulose microcristalina para ser usada como desagregante, tem de ser usada numa concentração entre os 5 e os 15% na formulação final, enquanto que, para ser usada como diluente/agregante, tem de ser usada numa concentração entre os 20 e os 90% na formulação final [Rowe et al., 2012, Shlieout et al., 2002]. A celulose microcristalina utilizada foi a Comprecel® M101 produzida pela empresa MINGTAI CHEMICAL CO. LTD e distribuída

pela empresa SAFIC ALCAN ESPECIALIDADES, S.A. Esta celulose microcristalina apresenta um diâmetro de partícula de cerca de 50 μg , uma humidade igual ou inferior a 7% e uma densidade de bulk entre 0,26 e 0,36 g/cm^3 .

Polivinilpirrolidona

A polivinilpirrolidona (PVP) é um polímero da N-vinilpirrolidona, solúvel em água e cuja polimerização acontece a altas temperaturas na presença de peróxido de hidrogénio. A polimerização pode ser interrompida em qualquer etapa, podendo-se assim produzir polímeros de vários tamanhos. Polímeros de baixo peso molecular são utilizados no fabrico de soluções injetáveis, enquanto que os polímeros de médio e alto peso molecular são mais utilizados na indústria farmacêutica na forma de pó. Hoje em dia a PVP solúvel, é um dos excipientes mais utilizados na indústria farmacêutica [Buhler, 2001]. Apesar de a PVP ser usada numa grande variedade de formulações farmacêuticas, é usada principalmente nas formas farmacêuticas sólidas orais. Na produção de comprimidos, soluções de PVP são muito usadas nos processos de granulação a húmido. A PVP é também adicionada a misturas secas de pós, e granulada com a adição de água, etanol, ou de soluções hidroalcoólicas [Rowe et al., 2012]. A PVP é muito utilizada na Lecifarma em formulações para compressão direta entrando na formulação como agregante. A PVP apresenta-se como um pó fino, branco sem cheiro e higroscópico. A PVP utilizada foi a PlasdonteTM K-29/32 da empresa ASHLAND INC., distribuída pela empresa BRENNTAG PORTUGAL, LDA. Esta matéria-prima apresenta uma densidade de bulk de 0,29 – 0,39 g/cm^3 e uma densidade areada de 0,39 – 0,54 g/cm^3 .

Estearato de magnésio

O estearato de magnésio (MS) é muito utilizado no fabrico de formulações farmacêuticas. O seu uso mais comum, é a sua utilização como lubrificante na produção de capsulas e comprimidos, sendo usado para este fim em concentrações entre os 0,25% e os 5,0% m/m. O estearato de magnésio é hidrofóbico e pode retardar a dissolução das formas sólidas orais onde está inserido. A utilização de quantidades altas deste excipiente, pode originar aglomerados hidrofóbicos de pós não dispersáveis. Assim sendo, usa-se na mínima concentração possível. A razão de dissolução e a dureza de comprimidos contendo na sua composição estearato de magnésio têm tendência a diminuir com o aumento do tempo de mistura, de modo que é

necessária atenção redobrada aos tempos de mistura quando usado o estearato de magnésio [Rowe et al., 2012]. Os lubrificantes são utilizados nas formulações de comprimidos para reduzir a fricção do granulado ou da mistura de pós com as paredes da matriz onde se faz a compressão, e para diminuir o atrito entre os punções e a matriz, facilitando a ejeção do comprimido e diminuindo o desgaste da matriz e dos punções [Prista et al., 1996]. O estearato de magnésio utilizado foi o KEMILUB EM-F-V produzido pela empresa UNION DERIVAN, S.A. (UNDESA) e distribuído em Portugal pela empresa LABORSPIRIT, LDA. Esta matéria-prima apresenta-se como um pó muito fino, leve e claro, com leve odor e sabor característico. O pó é gorduroso ao toque e adere logo à pele, tendo uma densidade de bulk de 0,159 g/cm³ e uma densidade areada de 0,286 g/cm³.

Sorbitol

O sorbitol (SBT) é muito usado em formulações farmacêuticas, em cosméticos, e na indústria alimentar. O sorbitol é usado como diluente em formulações de comprimidos em processos de compressão direta e granulação a húmido. Em preparações líquidas, o sorbitol é utilizado como veículo em formulações onde não se pretenda a presença de açúcares, e como estabilizante para princípios activos, vitaminas e suspensões antiácidas. O sorbitol é quimicamente inerte e é compatível com a maioria dos excipientes sendo estável em contato com o ar. O sorbitol não escurece e não se decompõe a elevadas temperaturas, ou na presença de aminas, não sendo inflamável, corrosivo e volátil [Rowe et al., 2012]. A aparência do sorbitol é de um pó incolor, cristalino e higroscópico, não tendo odor. Resolveu-se usar este excipiente neste trabalho, pois sendo um bom excipiente para a compressão direta, o sorbitol também é bastante utilizado em comprimidos mastigáveis devido ao seu sabor doce e refrescante. O sorbitol utilizado foi o sorbitol de nome comercial Parteck® SI 150 da empresa MERCK, S.A. Na Tabela 4.1 é apresentado um resumo dos ingredientes utilizados, bem como a sua marca comercial o fabricante e o distribuidor. Também foi incluído na mesma tabela o custo por quilo da matéria-prima e o respetivo lote.

Tabela 4.1: Resumo dos ingredientes utilizados.

Ingrediente	Nome comercial	Fabricante	Distribuidor	Lote	Preço (EUR/Kg)
Vit. C	Vitamina C revestida	PRODUCTOS QUIMICOS GONMISOL, S.A.	PRODUCTOS QUIMICOS GONMISOL, S.A.	2410971	9,90
MCC	Comprecel [®] M101	MINGTAI CHEMICAL CO. LTD	SAFIC ALCAN ESPECIALIDADES, S.A.	2410929	3,70
PVP	Plasdonte TM K-29/32	ASHLAND INC.	BRENNTAG PORTUGAL, LDA.	2410996	23,63
MS	KEMILUB EM-F-V	UNION DERIVAN, S.A. (UNDESA)	LABORSPIRIT, LDA.	2411023	3,15
SBT	Parteck [®] SI 150	UNION DERIVAN, S.A. (UNDESA)	LABORSPIRIT, LDA.	2411023	3,15

4.2 Produção dos comprimidos de vitamina C por delineamento experimental

O delineamento de experiências conhecido como DOE (*Design of Experiments*) é uma ferramenta amplamente utilizada para o planeamento e análise de experiências. No desenvolvimento de formulações farmacêuticas e nos seus processos de fabrico existem múltiplas variáveis e fatores que devem ser selecionados, o que torna geralmente necessária a utilização de técnicas de otimização experimental, como por exemplo os delineamentos experimentais [Lachman and Lieberman, 2001, Rotthäuser et al., 1998]. A utilização do DOE na indústria tem vindo a crescer nos últimos anos. Uma das técnicas do planeamento experimental é a mistura, onde vários componentes são misturados, e a influência de cada componente é investigada nas propriedades da mistura final. A qualidade final do produto acabado depende da quantidade de cada componente da mistura, variando as respostas aos testes ao produto final de acordo com as percentagens de cada ingrediente [Piepel and Cornel, 1985, Eriksson et al., 1998]. Neste trabalho a composição escolhida para a produção de comprimidos com alto teor em vitamina C, foi uma composição contendo vitamina C revestida, celulose microcristalina, polivinilpirrolidona, estearato de magnésio e sorbitol. Para o delineamento experimental considerou-se que todas as formulações iriam ter a mesma quantidade de vitamina C revestida e estearato de magnésio. Estas quantidades foram definidas como 1000 mg de vitamina C revestida e 15 mg de estearato de magnésio. Foi definido 1000 mg de vitamina C, pois sendo o VRN (valor de referencia do nutriente) da vitamina C 80 mg, 1000 mg representa-

riam 1250% de VRN, ou seja, um alto teor de vitamina C por comprimido. Foi definido 15 mg de estearato de magnésio, pois apesar de este excipiente dever ser utilizado entre 0,25% e 5,0% m/m como lubrificante, uma vez que os comprimidos não iriam ser comprimidos numa máquina com alimentação por tremonha, e sim numa prensa manual, considerou-se utilizar uma quantidade menor de estearato de magnésio, suficiente apenas para diminuir o atrito entre a matriz e os punções. Em relação as restantes ingredientes (MCC, PVP, SBT), considerou-se que estes iriam variar de formulação para formulação entre um máximo e um mínimo. Os intervalos definidos, foram para a MCC: 50 – 350 mg; para a PVP: 20 – 85 mg e para o SBT 0 – 300 mg. Um resumo dos ingredientes, e das suas quantidades a usar nas diferentes formulações lista-se na Tabela 4.2.

Tabela 4.2: Resumo dos intervalos dos ingredientes a utilizar (todos os valores estão em mg).

Ingrediente	Mínimo	Máximo
Vit. C	1000	1000
MS	15	15
MCC	50	350
PVP	20	85
SBT	0	350

Uma vez definidos os ingredientes e as suas quantidades, procedeu-se ao delineamento experimental das formulações a desenvolver. Para este processo foi utilizado o “software” Design Expert[®] 9.0 da empresa Stat-Ease, Inc. Neste “software” foram consideradas a execução de 20 formulações diferentes, cada uma com uma quantidade aleatória de cada ingrediente segundo o seu intervalo (Tabela 4.2). Foi selecionado um delineamento de mistura envolvendo três fatores (MCC, SBT e PVP) e foi definido um conjunto de experiências capaz de ser modelado através de modelos quadráticos. Desta forma foi selecionado o delineamento de mistura de faces centradas para modelos quadráticos [Eriksson et al., 2008]. O conjunto de experiências produzido pelo delineamento experimental encontra-se descrito na Tabela 4.3.

Tabela 4.3: Formulações desenvolvidas com utilização de delineamento experimental usando o software Design Expert 9.0. Todos os valores estão em mg.

Ensaio	SBT	MCC	PVP	Vit. C	MS	Massa total
1	0	50	50	1 000	15	1 115
2	300	50	71	1 000	15	1 436
3	234	155	84	1 000	15	1 488
4	54	107	21	1 000	15	1 197
5	92	341	36	1 000	15	1 484
6	300	350	85	1 000	15	1 750
7	300	272	65	1 000	15	1 652
8	197	251	20	1 000	15	1 483
9	288	142	36	1 000	15	1 481
10	0	350	71	1 000	15	1 436
11	221	350	66	1 000	15	1 651
12	300	50	20	1 000	15	1 385
13	300	350	27	1 000	15	1 692
14	84	133	65	1 000	15	1 296
15	0	149	85	1 000	15	1 249
16	3	245	40	1 000	15	1 303
17	101	284	84	1 000	15	1 484
18	93	50	85	1 000	15	1 243
19	195	50	40	1 000	15	1 300
20	0	350	20	1 000	15	1 385

4.3 Pesagem e mistura

De forma a proceder-se à pesagem dos ingredientes, considerou-se a produção de 100 comprimidos por ensaio. A massa de cada ingrediente por ensaio, assim como a massa de ensaio total, está descrita na Tabela 4.4.

Tabela 4.4: Massas dos ingredientes e dos ensaios pesadas.

Ensaio	SBT (mg)	MCC (mg)	PVP (mg)	Vit.C (mg)	MS (mg)	Massa total (mg)	Custo MP (EUR/100 cp)
1	0	5 000	5 023	100 000	1 500	111 523	1,13
2	30 000	5 000	7 103	100 000	1 500	143 603	1,31
3	23 400	15 500	8 403	100 000	1 500	148 803	1,35
4	5 400	10 700	2 065	100 000	1 500	119 665	1,11
5	9 150	34 106	3 625	100 000	1 500	148 381	1,24
6	30 000	35 000	8 500	100 000	1 500	175 000	1,45
7	30 000	27 200	6 485	100 000	1 500	165 185	1,37
8	19 650	25 100	2 000	100 000	1 500	148 250	1,22
9	28 800	14 150	3 625	100 000	1 500	148 075	1,25
10	0	35 000	7 070	100 000	1 500	143 570	1,29
11	22 050	35 000	6 550	100 000	1 500	165 100	1,37
12	30 000	5 000	2 000	100 000	1 500	138 500	1,19
13	30 000	35 000	2 650	100 000	1 500	169 150	1,31
14	8 400	13 250	6 485	100 000	1 500	129 635	1,23
15	0	14 900	8 500	100 000	1 500	124 900	1,25
16	300	24 500	4 048	100 000	1 500	130 348	1,18
17	10 050	28 400	8 405	100 000	1 500	148 355	1,34
18	9 300	5 000	8 500	100 000	1 500	124 300	1,25
19	19 500	5 000	4 015	100 000	1 500	130 015	1,19
20	0	35 000	2 000	100 000	1 500	138 500	1,17
Total	306 000	407 806	107 050	2 000 000	30 000	2 850 856	25,22



Figura 4.1: Balança eletrónica Mettler Toledo MS 300 2S/01.

As pesagens para cada um dos ensaios foram efetuadas na câmara de pesagens da Lecifarma. Para tal, foi utilizada uma balança eletrónica Mettler Toledo MS 300 2S/01 (Fig. 4.1).

Foram primeiro pesados, os ingredientes Vit. C, MCC, PVP e SBT, para dentro de um saco de plástico com capacidade para 1 Kg. Uma vez pesados estes ingredientes, procedeu-se à primeira mistura. A mistura, devido à pequena massa de cada ensaio, foi feita manualmente, agitando o saco de plástico durante cerca de 3 minutos. Terminada a primeira mistura, foi pesado para dentro do saco, o ingrediente em falta, o MS. Procedeu-se por fim à mistura final, agitando o saco com todos os ingredientes durante 2 minutos. Este protocolo foi repetido para todos os ensaios.

4.4 Compressão

A compressão das misturas em comprimidos, foi feita nos laboratórios de métodos instrumentais de análise da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa. Para tal foi utilizada uma prensa manual de marca Specac (Fig. 4.2), utilizada no fabrico de pastilhões para análise FT-IR. Sendo este equipamento completamente manual, foi necessário para o fabrico de cada comprimido, proceder à determinação da massa que seria comprimida por pesagem em balança analítica.



Figura 4.2: Prensa manual Specac.

Para estas pesagens utilizou-se uma balança eletrónica Mettler Toledo AG204 Delta Range (Fig. 4.3). Para cada ensaio foram produzidos 30 comprimidos, o que significou 600 pesagens no total. Como pressão a ser exercida para a compressão, definiu-se um valor de 300 kPa. Considerou-se este valor, de forma a que os comprimidos apresentassem durezas acima dos 10 kPa.

4.5 Testes farmacotécnicos

Os testes de farmacotecnia utilizados para caracterizar os comprimidos produzidos, foram a friabilidade dos comprimidos não revestidos, a dureza dos comprimidos, a desagregação dos comprimidos, a uniformidade de massa das preparações apresentadas em formas farmacêuticas unitárias e o doseamento da vitamina C. Todos estes testes foram feitos conforme descrito na Farmacopeia Portuguesa 9.8. As especificações adaptadas neste trabalho para a conformidade dos testes de farmacotecnia dos comprimidos são as especificações utilizadas pela Lecifarma para os suplementos alimentares.

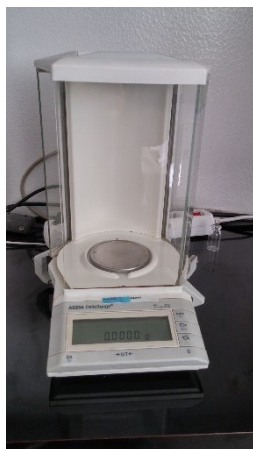


Figura 4.3: Balança eletrónica Mettler Toledo AG204 Delta Range.

4.5.1 Friabilidade

Foi feita de acordo como estipulado na FP 9.8 e utilizando o aparelho Erweka Apparatebau GMBH, Type: TAUZ N.57868 (Fig.4.4). Consistiu na pesagem de 10 comprimidos (P_i) do mesmo lote, os quais foram colocados no friabilómetro. Após 100 rotações os comprimidos são retirados, limpos do pó libertado e pesados (P_f). O valor da friabilidade ($F\%$) é calculado através da aplicação da Eq. 4.1.

$$F(\%) = 100 \frac{P_i - P_f}{P_i} \quad (4.1)$$

A especificação para a conformidade dos comprimidos em relação à friabilidade, especifica que estes tenham valores de friabilidade inferior ou igual a 1%.

4.5.2 Dureza

Foi determinada a dureza radial em 10 comprimidos do mesmo lote usando um aparelho Erweka Apparatebau GMBH, Type: TBH28 N.57830 (Fig. 4.5), calculando-se seguidamente a dureza média. Apesar da FP 9.8 indicar a expressão das unidades da dureza em Newtons, neste trabalho optou-se por indicar as unidades de acordo com a especificação da Lecifarma. Os comprimidos para estarem conformes devem apresentar durezas iguais ou superiores a 10 kPa.



Figura 4.4: Erweka Apparatebau GMBH TAUZ.



Figura 4.5: Erweka Apparatebau GMBH TBH28.



Figura 4.6: Erweka Apparatebau GMBH, Type: ZT4/1.

4.5.3 Desagregação

O tempo de desagregação foi medido de acordo com o método descrito na FP 9.8, no qual 6 comprimidos são colocados no aparelho de desagregação Erweka Apparatebau GMBH, Type: ZT4/1 N-51131 (Fig. 4.6), sendo utilizada água a uma temperatura compreendida entre os 35°C e os 39°C como solvente. O tempo necessário para a desagregação dos comprimidos foi determinado em minutos com o auxílio de um cronómetro. Na Lecifarma existem duas especificações utilizadas para conformidade dos comprimidos em relação ao teste da desagregação. A especificação ideal é um tempo de desagregação igual ou inferior a 30 minutos. No entanto existe também uma outra especificação aceitável de tempo de desagregação igual ou inferior a 45 minutos (esta última especificação só é utilizada quando não se consegue de maneira nenhuma formular o comprimidos de maneira a que desagregue antes dos 30 minutos). Neste trabalho consideraremos o tempo ideal de desagregação igual ou inferior a 30 minutos, mas também aceitaremos como aceitável um tempo de desagregação igual ou inferior a 45 minutos.

4.5.4 Uniformidade de massa

Foi feita de acordo com o estipulado na FP 9.8. O objetivo da compressão seria obter comprimidos com massa uniforme. Na prática torna-se impossível que a totalidade dos comprimidos apresente massas rigorosamente iguais e são por isso permitidas variações dentro



Figura 4.7: Balança eletrónica Mettler Toledo AG245.

de certos limites especificados nas farmacopeias. Este teste consistiu na pesagem individual em balança de precisão Mettler Toledo AG245 (Fig. 4.7) de 20 comprimidos do mesmo lote e determinada a sua massa média. A especificação para este teste, segundo a FP 9.8 para comprimidos com massa superior a 250 mg, seria que não mais do que 2 das 20 unidades pesadas poderiam diferir da massa média encontrada em percentagem superior a 5%, e em nenhum caso poderia a diferença exceder o dobro dessa percentagem.

4.5.5 Uniformidade de teor

A uniformidade de teor das preparações apresentadas em formas farmacêuticas unitárias baseia-se na determinação do teor individual em substância ativa das unidades que constituem a amostra, permitindo verificar se se encontram ou não dentro dos limites estabelecidos em relação ao teor médio da amostra. Neste trabalho não foi feito este ensaio, pois segundo a FP 9.8, o ensaio não é obrigatório para as preparações polivitamínicas ou que contenham oligoelementos e ainda para outros casos justificados e autorizados. Apesar de não se fazer a uniformidade de teor, procedeu-se ao doseamento da vitamina C. O doseamento da vitamina C, foi feito segundo o protocolo de doseamento presente na monografia do ácido ascórbico incluído na FP 9.8. Este protocolo consiste na dissolução de 0,150 g de amostra numa mistura de 10 ml de ácido sulfúrico diluído R e 80 ml de água isenta de dióxido de carbono R, à qual se adiciona 1 ml de solução de amido R. O doseamento é feito através da titulação desta

solução com iodo 0,05 M até aparecimento de coloração azul-violeta persistente. A cada 1 ml de iodo 0,05, correspondem 8,81 mg de ácido ascórbico. A especificação para a conformidade dos valores de ácido ascórbico por comprimido, foram adaptados do ensaio A do teste de uniformidade de teor da FP 9.8, que refere que no caso dos comprimidos, a preparação satisfaz ao ensaio se o teor individual da unidade estiver compreendido entre 85% e 115% do teor médio. Uma vez que todos os comprimidos deveriam ter na sua composição 1000 mg de vitamina C, considerou-se que estariam conforme, caso os valores do doseamento do ácido ascórbico estivessem dentro do intervalo 850 mg – 1150 mg. O doseamento da vitamina C, foi feito com o intuito de confirmar se a sua quantidade de Vitamina C por comprimido estava de acordo com a quantidade teórica prevista na formulação. Este teste viria a confirmar se os tempos de misturas definidos foram os corretos. Apenas foi feito um doseamento por cada formulação pelo que não se apresenta a análise estatística da dispersão destas medidas.

4.6 Aquisição espectral

Os espectros NIR foram obtidos num espectrofotómetro FT-NIR modelo Antaris NEAR IR Analyser (Fig. 4.8) da empresa Thermo Nicolet Industrial Solutions de intervalo espectral compreendido entre os 12000 e os 3800 cm^{-1} (833 – 2630 nm), resolução de 8 cm^{-1} , e 32 varrimentos por espectro, com uma precisão de comprimento de onda de 0,1 cm. Os espectros foram obtidos através de medição em modo de reflectância difusa utilizando uma sonda de fibra ótica da marca SabIR. O equipamento foi controlado através do aplicativo Result Integration v1.2 da empresa Thermo Nicolet Industrial Solutions.

Foram adquiridos para cada formulação, dois espectros de cada face de dois comprimidos retirados ao acaso de cada um dos lotes produzidos (20 no total). Desta forma foram adquiridos oito espectros por ensaio (quatro por comprimido e dois por face) num total de 160 espectros no total. Foram também adquiridos três espectros de cada ingrediente puro utilizado nas formulações para auxiliar a análise dos resultados dos modelos a desenvolver.



Figura 4.8: FT-NIR analyser: Thermo-Fisher ANTARIS.

Capítulo 5

Resultados e discussão

5.1 Testes farmacotécnicos

5.1.1 Uniformidade de massa

De acordo com a FP 9.8, a variação aceitável de peso médio para comprimidos com mais de 250 mg é de 5%, sendo que não mais do que 2 das 20 unidades pesadas poderiam diferir da massa média encontrada em percentagem superior a 5%, e em nenhum caso poderia a diferença exceder o dobro dessa percentagem. Os resultados das pesagens dos 20 comprimidos de cada ensaio encontram-se descritos na Tabela 5.1.

Pela análise da Tabela 5.1, verifica-se que todos os comprimidos pesados em todos os ensaios, têm massas dentro do intervalo de 5%. Todos os ensaios apresentam assim conformidade segundo o teste de uniformidade de massa descrito na FP 9.8. Por outro lado, observa-se também que as médias das pesagens diferem em alguns miligramas das massas teóricas dos ensaios. Isto ocorre, pois sendo a compressão manual, todos os comprimidos tiveram a sua massa correspondente em pó pesada, e transportada em papéis para o local da compressão. Esta logística torna muito difícil a produção de comprimidos que tenham exatamente a massa teorizada, pois existem sempre perdas (p.e., pó que fica agarrado ao papel ou pó que se perde no ar).

Tabela 5.1: Resultado das pesagens de 20 comprimidos dos ensaios 1 a 20 (todos os valores em g).

Ensaios	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Massa teórica	1,1150	1,4360	1,4880	1,1970	1,4840	1,7500	1,6520	1,4830	1,4810	1,4360	1,6510	1,3850	1,6920	1,2960	1,2490	1,3030	1,4840	1,2430	1,3000	1,3850
1	1,0730	1,4065	1,4860	1,2066	1,4734	1,7453	1,6511	1,4840	1,4689	1,4437	1,6527	1,3216	1,6901	1,2787	1,2430	1,2956	1,4624	1,2376	1,2970	1,3726
2	1,0463	1,3719	1,4997	1,1969	1,4686	1,7476	1,6465	1,4923	1,5293	1,4353	1,6225	1,3920	1,6864	1,2839	1,2218	1,2919	1,4770	1,1971	1,2738	1,3604
3	1,0517	1,4246	1,4877	1,1961	1,4630	1,7354	1,6497	1,4837	1,4832	1,4498	1,6547	1,3917	1,6898	1,2761	1,2432	1,3005	1,4638	1,2363	1,2953	1,3760
4	1,0949	1,4287	1,4824	1,2017	1,4814	1,7345	1,6458	1,4890	1,4800	1,4347	1,6526	1,3880	1,6733	1,2876	1,2420	1,2930	1,4507	1,2370	1,2893	1,3639
5	1,0850	1,3909	1,4889	1,1948	1,4996	1,7554	1,6466	1,4360	1,4804	1,4323	1,6529	1,3897	1,6794	1,2887	1,2308	1,2887	1,4676	1,2322	1,2763	1,3610
6	1,0868	1,4208	1,4733	1,1932	1,4702	1,7440	1,6479	1,4855	1,4548	1,4474	1,6465	1,3747	1,6806	1,2807	1,2379	1,2902	1,4757	1,2337	1,2890	1,3714
7	1,1284	1,4263	1,4729	1,1742	1,4901	1,7225	1,6469	1,4872	1,4792	1,4391	1,6348	1,3865	1,6880	1,2761	1,2341	1,2974	1,4768	1,2270	1,2918	1,3675
8	1,0565	1,4237	1,4822	1,1990	1,4875	1,7148	1,6582	1,4838	1,4831	1,4442	1,6462	1,3260	1,6881	1,2817	1,2413	1,2843	1,4781	1,2356	1,2866	1,3796
9	1,1072	1,4264	1,4919	1,8720	1,4758	1,7529	1,6478	1,4943	1,4805	1,4255	1,6553	1,3822	1,6885	1,2800	1,2411	1,2922	1,4756	1,2338	1,2907	1,3751
10	1,0807	1,4284	1,4978	1,1897	1,4848	1,7500	1,6388	1,4908	1,4191	1,4100	1,6473	1,3749	1,6970	1,2904	1,2444	1,2876	1,4746	1,2318	1,2927	1,3712
11	1,0969	1,4143	1,4777	1,1858	1,4843	1,7370	1,6479	1,4631	1,4943	1,4393	1,6051	1,4076	1,6935	1,2970	1,2274	1,2842	1,4684	1,2359	1,2879	1,3500
12	1,0752	1,4296	1,4984	1,1931	1,4897	1,7453	1,6361	1,4853	1,4880	1,4355	1,6419	1,3948	1,6778	1,2814	1,2660	1,2957	1,4689	1,2394	1,2921	1,3724
13	1,0812	1,4260	1,4733	1,1983	1,4948	1,7417	1,6393	1,4818	1,4888	1,4379	1,6573	1,3556	1,6866	1,2765	1,2650	1,3075	1,4772	1,2394	1,2914	1,3573
14	1,0397	1,4871	1,4872	1,1907	1,4679	1,7460	1,6501	1,4695	1,5429	1,4564	1,6301	1,3749	1,6976	1,2758	1,2761	1,2743	1,4615	1,2606	1,2816	1,3572
15	1,0983	1,4278	1,4902	1,1904	1,4743	1,7473	1,6469	1,4662	1,4897	1,4438	1,6479	1,3596	1,6950	1,2795	1,2407	1,2902	1,4858	1,2666	1,2745	1,3702
16	1,0881	1,4273	1,5200	1,1892	1,4830	1,7543	1,6408	1,4889	1,4758	1,4310	1,6715	1,3888	1,6940	1,2951	1,2665	1,2914	1,4808	1,2338	1,2724	1,3837
17	1,1188	1,4304	1,4785	1,2013	1,4852	1,7494	1,6484	1,4849	1,5402	1,4512	1,6578	1,3819	1,6918	1,2940	1,2685	1,2780	1,4871	1,2346	1,3044	1,3917
18	1,1087	1,4177	1,4669	1,1846	1,4486	1,7448	1,6541	1,4755	1,5083	1,4487	1,6681	1,3625	1,6907	1,2796	1,2543	1,2973	1,4716	1,2572	1,2783	1,3505
19	1,1257	1,4364	1,4813	1,1963	1,4714	1,7076	1,6530	1,4843	1,5058	1,4437	1,6565	1,3933	1,6724	1,2723	1,2533	1,3092	1,4751	1,2357	1,2812	1,3717
20	1,1373	1,3861	1,5025	1,1846	1,4281	1,7633	1,6397	1,4788	1,5165	1,4329	1,6688	1,3793	1,6757	1,2980	1,2953	1,2900	1,4741	1,2373	1,2875	1,3914
Média	1,0890	1,4215	1,4869	1,2269	1,4761	1,7420	1,6468	1,4802	1,4904	1,4391	1,6485	1,3763	1,6868	1,2837	1,2496	1,2920	1,4726	1,2371	1,2867	1,3697
Média - 5%	1,0346	1,3505	1,4126	1,1656	1,4023	1,6549	1,5644	1,4062	1,4159	1,3672	1,5661	1,3075	1,6025	1,2195	1,1872	1,2274	1,3990	1,1753	1,2224	1,3013
Média + 5%	1,1435	1,4926	1,5613	1,2883	1,5499	1,8291	1,7291	1,5543	1,5650	1,5111	1,7509	1,4451	1,7712	1,3478	1,3121	1,3566	1,5463	1,2990	1,3510	1,4382

5.1.2 Doseamento do ácido ascórbico

Como foi descrito no capítulo *Materiais e métodos* não foi feito o teste da uniformidade de teor, pois segundo a FP 9.8, o ensaio não é obrigatório para as preparações polivitamínicas ou que contenham oligoelementos e ainda para outros casos justificados e autorizados. No entanto procedeu-se ao doseamento do ácido ascórbico segundo monografia da FP 9.8 em todos os ensaios. Com este teste, pretendia-se ter uma noção sobre se os tempos de mistura estariam bem definidos. Como especificação, foi adotada a especificação do ensaio A do teste de uniformidade de teor da FP 9.8, que refere que no caso dos comprimidos, a preparação satisfaz ao ensaio se o teor individual da unidade estiver compreendido entre 85% a 115% do teor médio. No caso do teste do doseamento do ácido ascórbico, e uma vez que todos os comprimidos deveriam ter na sua composição 1000 mg de vitamina C, considerou-se que a conformidade estaria presente, caso os valores do doseamento do ácido ascórbico estivessem dentro do intervalo 850 mg – 1150 mg. Na Tabela 5.2 estão representados os valores do doseamento do ácido ascórbico de cada um dos ensaios testados.

Tabela 5.2: Valores do doseamento do ácido ascórbico por ensaio.

Ensaio	Vit.C (mg)
1	1056
2	944
3	1030
4	1006
5	997
6	1010
7	948
8	1017
9	1023
10	988
11	988
12	986
13	961
14	973
15	1028
16	926
17	943
18	1032
19	960
20	966

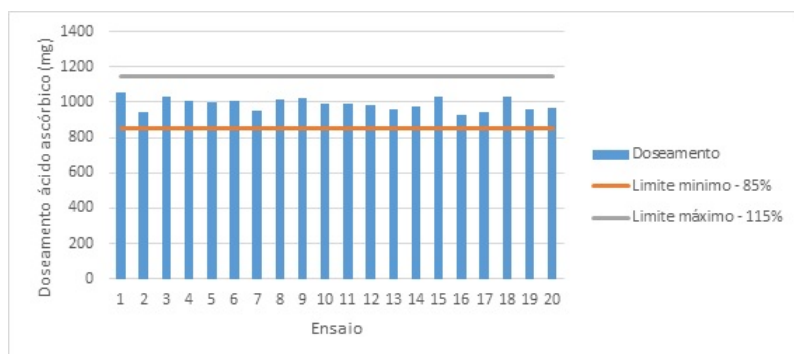


Figura 5.1: Doseamento do ácido ascórbico nos ensaios efetuados.

Através da análise da Tabela 5.2, e do gráfico da fig. 5.1, observa-se que todos os ensaios apresentam valores de ácido ascórbico dentro da margem especificada.

Apesar de este teste não poder ser avaliado do ponto de vista da significância estatística, uma vez que só se fez o doseamento a uma amostra de cada ensaio, observa-se que a quantidade de ácido ascórbico presente nos comprimidos analisados se encontra próxima da quantidade teórica prevista na formulação. Estes valores indicam que os tempos de mistura adotados nas formulações (3 minutos para a 1ª mistura e 2 minutos para a mistura final) foram bem definidos.

5.1.3 Friabilidade

A determinação da friabilidade de um comprimido avalia a sua resistência. A friabilidade fornece indicações úteis quanto à resistência e ao desgaste por atrito dos comprimidos nas operações de embalagem e transporte, ou outras operações tecnológicas, como o revestimento. De um modo geral, a friabilidade é um indicador da compactação do material além de ser condicionante da aceitação da forma farmacêutica pelo consumidor. [Prista et al., 1996] Na Tabela 5.3 são apresentados os resultados dos testes de friabilidade executados aos ensaios.

A especificação de conformidade para o teste da friabilidade adotada, referia, que para estar conforme, os valores deveriam ser iguais ou inferiores a 1%. No gráfico da fig. 5.2 podem-se observar quais os ensaios conformes e não conformes.

Pela análise do gráfico na Fig. 5.2, verifica-se que os ensaios 1, 4, 15, 18 e 19, apresentam valores de friabilidade não conformes, não apresentado assim estes comprimidos e as suas

Tabela 5.3: Resultados dos testes de friabilidade.

Ensaio	Friabilidade (%)
1	3,890
2	0,890
3	0,760
4	2,770
5	0,680
6	0,373
7	0,485
8	0,844
9	0,367
10	0,264
11	0,303
12	0,588
13	0,344
14	0,996
15	1,495
16	0,913
17	0,640
18	1,890
19	1,670
20	0,936

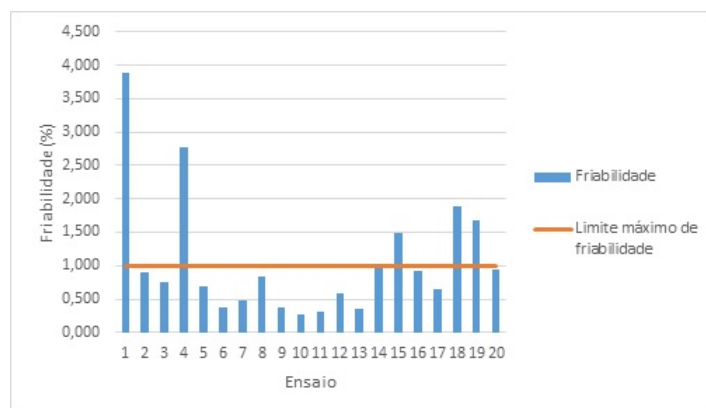


Figura 5.2: Valores de friabilidade obtidos para os ensaios efetuados.

formulações correspondentes, qualidade suficiente segundo este parâmetro.

5.1.4 Dureza

A determinação da dureza de um comprimido avalia a sua resistência ao esmagamento. Do ponto de vista tecnológico, trata-se de uma avaliação indireta do grau de consolidação dos comprimidos (formação de ligações sólido – sólido, devido à diminuição da energia livre de superfície das partículas sólidas) [Lachman and Lieberman, 2001]. Os resultados dos testes de dureza estão representados na Tabela 5.4.

Tabela 5.4: Resultados dos testes de dureza.

Ensaio	Média (kPa)	Desvio Padrão	Mínimo (kPa)	Máximo (kPa)
1	12,18	1,76	9,48	15,49
2	27,52	2,15	23,17	30,98
3	29,76	3,36	20,48	32,41
4	14,27	0,61	13,65	15,69
5	30,91	1,25	28,74	32,82
6	>33,82	—	32,82	—
7	>32,82	—	32,82	—
8	25,68	0,78	24,15	26,50
9	27,09	1,29	26,19	28,64
10	>32,82	—	32,82	—
11	>32,82	—	32,82	—
12	22,60	1,20	21,10	23,93
13	>32,82	—	32,82	—
14	21,50	0,64	20,28	22,12
15	21,14	0,72	20,08	22,32
16	21,50	0,52	20,69	22,12
17	26,44	1,02	24,66	27,54
18	14,90	0,78	13,55	15,49
19	15,63	0,50	14,98	16,2
20	21,34	0,80	20,28	22,42

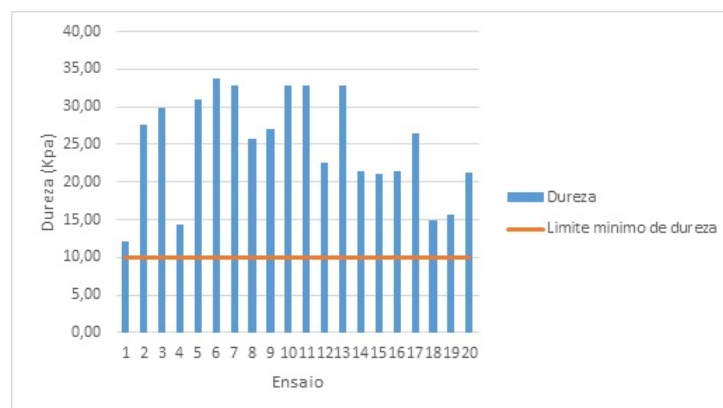


Figura 5.3: Valores de dureza obtidos para os ensaios efetuados.

Como o aparelho de determinação das durezas apenas consegue medir durezas até 32,82 kPa, não existe informação sobre os valores de dureza dos ensaios 6, 7, 10, 11 e 13, pois os comprimidos destes ensaios não quebraram, tendo assim durezas superiores a 32,82 kPa. A especificação de conformidade para o teste da dureza adotada, referia, que para estar conforme, os valores deveriam ser superiores a 10 kPa. No gráfico da Fig. 5.3 podem-se observar quais os ensaios conformes e não conformes.

Analisando a Fig. 5.3, pode-se observar que todos os ensaios têm valores de dureza acima do valor da especificação (10 kPa) apresentando assim todos conformidade segundo o teste da dureza.

5.1.5 Desagregação

Os resultados do teste de desagregação aos comprimidos dos 20 ensaios estão representados na Tabela 5.5.

Tabela 5.5: Resultados dos testes de desagregação.

Ensaio	Desagregação (minutos)
1	25
2	28
3	33
4	20
5	46
6	52
7	36
8	27
9	29
10	51
11	37
12	21
13	39
14	29
15	30
16	33
17	38
18	25
19	23
20	27

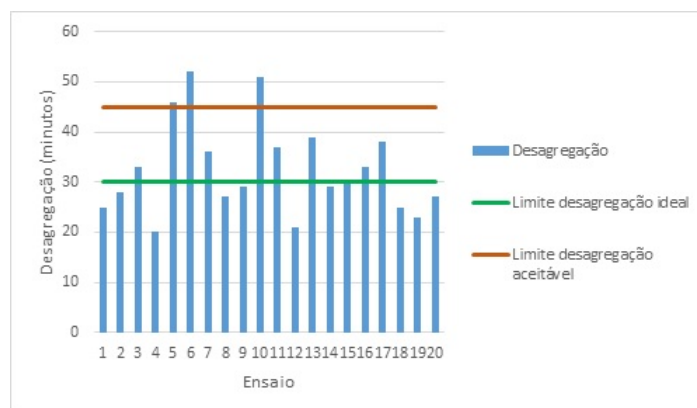


Figura 5.4: Valores de tempo de desagregação obtidos para os ensaios efetuados.

Foram adotadas duas especificações de conformidade para o teste da desagregação. Uma especificação ideal, em que especificava que os comprimidos deveriam ter tempos de desagregação inferiores a 30 minutos, e uma segunda especificação aceitável que especificava tempos de desagregação inferiores a 45 minutos como conformes. Na Fig. 5.4 podem-se observar quais os ensaios conformes e não conformes de acordo com as duas especificações.

Analisando o gráfico da Fig. 5.4, pode-se observar que apenas os ensaios 5, 6 e 10 apresentam não conformidade com as duas especificações. Já os ensaios 3, 7, 11, 13, 16 e 17, apresentam conformidade segundo a especificação aceitável, mas não conformidade segundo a especificação ideal. Todos os restantes ensaios apresentam conformidade segundo a especificação ideal.

5.1.6 Resumo dos ensaios conformes e não conformes

Comparando os resultados dos testes da friabilidade, dureza e desagregação, observa-se que das 20 formulações propostas, 8 apresentaram não conformidades. Dentro dos ensaios não conformes, encontram-se os ensaios 1, 4, 5, 6, 10, 15, 18 e 19. A Tabela 5.6 apresenta as formulações correspondentes aos ensaios conformes, e aos ensaios não conformes, indicando o teste farmacotécnico motivo da não conformidade.

Tabela 5.6: Ensaios conformes, não conformes e motivo de não conformidade.

Ensaio	SBT (mg)	MCC (mg)	PVP (mg)	Vit. C (mg)	MS (mg)	Massa Total (mg)	Conformidade	Motivo da não conformidade
1	0	50	50	1 000	15	1 115	Não conforme	Friabilidade
2	300	50	71	1 000	15	1 436	Conforme	-
3	234	155	84	1 000	15	1 488	Conforme	-
4	54	107	21	1 000	15	1 197	Não conforme	Friabilidade
5	92	341	36	1 000	15	1 484	Não conforme	Desagregação
6	300	350	85	1 000	15	1 750	Não conforme	Desagregação
7	300	272	65	1 000	15	1 652	Conforme	-
8	197	251	20	1 000	15	1 483	Conforme	-
9	288	142	36	1 000	15	1 481	Conforme	-
10	0	350	71	1 000	15	1 436	Não conforme	Desagregação
11	221	350	66	1 000	15	1 651	Conforme	-
12	300	50	20	1 000	15	1 385	Conforme	-
13	300	350	27	1 000	15	1 692	Conforme	-
14	84	133	65	1 000	15	1 296	Conforme	-
15	0	149	85	1 000	15	1 249	Não conforme	Friabilidade
16	3	245	40	1 000	15	1 303	Conforme	-
17	101	284	84	1 000	15	1 484	Conforme	-
18	93	50	85	1 000	15	1 243	Não conforme	Friabilidade
19	195	50	40	1 000	15	1 300	Não conforme	Friabilidade
20	0	350	20	1 000	15	1 385	Conforme	-

Considerando apenas a especificação ideal do teste da desagregação (tempo de desagregação inferior a 30 minutos) e relacionando-a com as restantes especificações dos testes da dureza e da friabilidade, obtêm-se os ensaios com melhores resultados dos testes de farmacotecnia. Estes ensaios e o seu custo estão discriminados na Tabela 5.7.

Tabela 5.7: Ensaios com melhores resultados nos testes de farmacotecnia e seu respetivo custo.

Ensaio	SBT (mg)	MCC (mg)	PVP (mg)	Vit.C (mg)	MS (mg)	Massa Total (mg)	Custo (EUR/100 cp)
2	300	50	71	1 000	15	1 436	1,31
8	197	251	20	1 000	15	1 483	1,22
9	288	142	36	1 000	15	1 481	1,25
12	300	50	20	1 000	15	1 385	1,19
14	84	133	65	1 000	15	1 296	1,23
20	0	350	20	1 000	15	1 385	1,17

Pela análise da Tabela 5.7, observa-se que dos 20 ensaios testados, apenas 6 obtiveram os resultados ideais conforme as especificações definidas. Desses 6, os ensaios mais prometedores, são o ensaio 14, pois é o que apresenta uma menor massa de comprimido, e o ensaio 20 que é o mais viável economicamente.

5.2 Modelação da friabilidade, dureza e desagregação com base na composição

Para se construir modelos matemáticos explicativos dos resultados dos testes de friabilidade, dureza e desagregação, em relação às formulações adotadas, utilizou-se o aplicativo Modde 10.1, comercializado pela empresa Umetrics. De forma a introduzir os dados neste programa informático, elaborou-se uma tabela de apoio com os fatores (quantidade dos excipientes sujeitos a variação) e as respostas (valores experimentais dos testes de friabilidade, dureza e desagregação). A Tabela 5.8 ilustra a informação inserida no Modde para construção dos modelos.

Tabela 5.8: Tabela de dados inserida no Modde para otimização.

Ensaio	SBT (mg)	MCC (mg)	PVP (mg)	Friabilidade (%)	Dureza (kPa)	Desagregação (minutos)
1	0	50	50	3,890	12,18	25
2	300	50	71	0,890	27,52	28
3	234	155	84	0,760	29,76	33
4	54	107	21	2,770	14,27	20
5	92	341	36	0,680	30,91	46
6	300	350	85	0,373	33,82	52
7	300	272	65	0,485	32,82	36
8	197	251	20	0,844	25,68	27
9	288	142	36	0,367	27,09	29
10	0	350	71	0,264	32,82	51
11	221	350	66	0,303	32,82	37
12	300	50	20	0,588	22,60	21
13	300	350	27	0,344	32,82	39
14	84	133	65	0,996	21,50	29
15	0	149	85	1,495	21,14	30
16	3	245	40	0,913	21,50	33
17	101	284	84	0,640	26,44	38
18	93	50	85	1,890	14,90	25
19	195	50	40	1,670	15,63	23
20	0	350	20	0,936	21,34	27

Feita a inserção dos dados constantes na Tabela 5.8 no Modde, procedeu-se à otimização e validação dos modelos para a friabilidade, dureza e desagregação. Os modelos foram gerados considerando o algoritmo MLR. Pretendem-se nestes modelos estimar as propriedades farmacotécnicas através das composições das três matérias-primas que foram variadas. Ao construir um modelo de regressão, as ferramentas de diagnóstico mais importantes são os parâmetros R^2 e Q^2 . O R^2 é uma medida do ajuste das previsões do modelo aos dados experimentais mede quão bem o modelo pode ser construído para comportar os dados. O R^2 varia entre 0 e 1, em que o valor 1 indica um modelo perfeito, e o valor 0 a não existência de um modelo. O parâmetro Q^2 também designado como ajuste preditivo, estima o poder preditivo do modelo. Este parâmetro estima o desempenho do modelo na presença de dados não utilizados na calibração. O Q^2 tem um limite máximo de 1, mas não possui qualquer limite mínimo. Considera-se que um modelo para ser um bom modelo deverá ter valores de R^2 e Q^2 elevados, em que o Q^2 deverá ser superior a 0,5, e que a diferença entre o R^2 e o Q^2 deverá ser inferior a 0,3 [Eriksson et al., 2008]. Em todos os casos, partiu-se de um modelo com estrutura linear e com interações. Todos os modelos foram estimados usando esta estrutura inicial e depois foram otimizados através da remoção de termos estatisticamente não significativos considerando em todos os casos uma significância estatística de 0,05. A estrutura base de todos os modelos está descrita na Eq. 5.1.

$$\begin{aligned} y = & \alpha_0 + \alpha_1 x_{MCC} + \alpha_2 x_{PVP} + \alpha_3 x_{SBT} + \\ & + \alpha_4 x_{MCC} x_{PVP} + \alpha_5 x_{MCC} x_{SBT} + \alpha_6 x_{PVP} x_{SBT} + \\ & + e \end{aligned} \quad (5.1)$$

Na Eq. 5.1, o y (resposta) pode ser a friabilidade, tempo de desagregação ou dureza e os diferentes x (fatores) consistem nas massas usadas em cada formulação.

5.2.1 Desagregação

Os valores de R^2 e Q^2 obtido considerando a estrutura inicial do modelo para a desagregação foram respetivamente 0,809 e 0,438. Como pode ser observado, o modelo apresentava um valor de Q^2 de 0,438, abaixo do valor de 0,5 indicativo de um bom modelo. Por outro lado, a diferença entre o R^2 e o Q^2 era bastante superior à diferença característica de um bom modelo

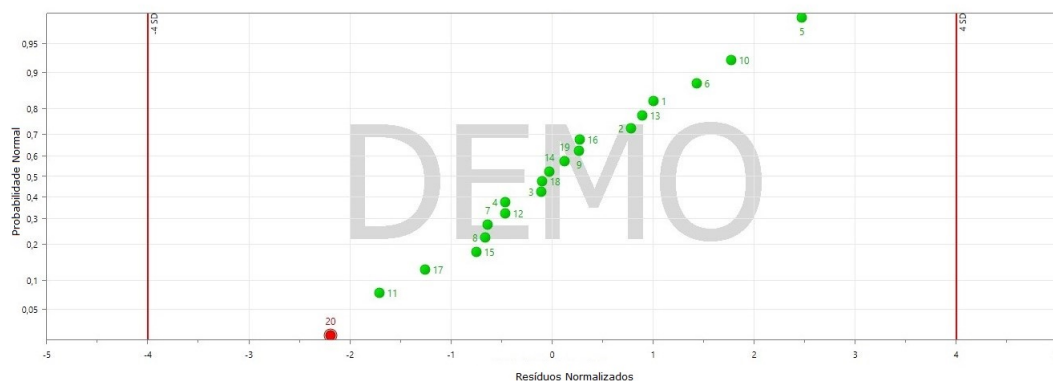


Figura 5.5: Distribuição dos resíduos para o modelo para a desagregação não otimizado.

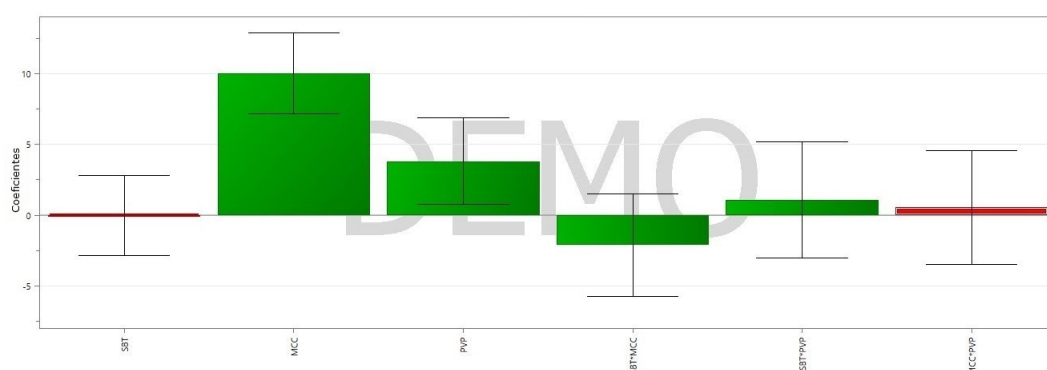


Figura 5.6: Coeficientes do modelo da desagregação.

(inferior a 0,3) sendo essa diferença de 0,371. Considerou-se que este modelo não possuía um desempenho aceitável, pelo que se procedeu à otimização do mesmo. Para a otimização do modelo observou-se a probabilidade normal dos resíduos, representada na Fig. 5.5.

Na Fig. 5.5 pode-se observar que todos os ensaios estão distribuídos segundo uma reta o que indica que os resíduos seguem uma distribuição aproximadamente normal o que é um bom indicador do desempenho do modelo. Tentou-se melhorar o modelo, analisando os coeficientes e verificando se excluindo aqueles não significativos se conseguiam valores de Q^2 maiores.

Pela análise dos coeficientes, verifica-se que o coeficiente SBT e o coeficiente para o

termo de interação MCC*PVP, se encontram muito perto de zero. Apenas o coeficiente MCC*PVP foi excluído, pois excluir o coeficiente SBT, faz com que todos os coeficientes onde este coeficiente está presente ($x_{SBT*PVP}$ e $x_{SBT*MCC}$) sejam excluídos mesmo tendo estes significância para o modelo. Este é um requisito do aplicativo utilizado. Após remoção destes termos produziu-se novo ajuste do modelo. Com a exclusão do termo de interação MCC*PVP, verifica-se que o Q^2 aumenta para 0,661. Na Tabela 5.9 estão descritos os coeficientes do modelo otimizado para a desagregação.

Tabela 5.9: Coeficientes e significância estatística para o modelo otimizado de previsão da desagregação ($R^2=0,86$ e $Q^2=0,661$).

	Coeficiente	Desvio padrão	Intervalo de confiança	Valor-p
Constante	32,8136	0,98	2,10802	5×10^{-14}
SBT	-0,00983892	1,25	2,70108	$9,9 \times 10^{-1}$
MCC	10,0573	1,25	2,70065	$2,1 \times 10^{-6}$
PVP	3,77893	1,33	2,88624	$1,4 \times 10^{-2}$
SBT*MCC	-2,18211	1,58	3,41922	$1,9 \times 10^{-1}$
SBT*PVP	1,17902	1,8	3,87908	$5,2 \times 10^{-1}$

Por forma a avaliar a validade estatística da regressão foi feita uma análise de variância (ANOVA) [Winer et al., 1991]. Verifica-se que a significância estatística da regressão é significativa a um nível de probabilidade de 95%, o que valida a regressão. Note-se que este teste apenas testa a razão entre a variância dos valores estimados (neste caso a desagregação) e a variância dos resíduos do modelo. Neste caso, pretende-se que a variância dos resíduos seja substancialmente inferior à dos dados de desagregação. O teste estatístico subjacente (teste F) tem como hipótese nula a de que estas duas quantidades são iguais. Por isso rejeita-se a hipótese nula quando o valor-p for inferior a 0,05 o que acontece neste caso (valor-p<0,001). Um teste adicional normalmente requerido consiste na comparação entre a variância dos resíduos e a variância estimada a partir de um conjunto de réplicas. Neste caso pretende-se que estes valores não sejam muito distintos pelo que se considera um bom modelo quando o valor-p do teste seja superior a 0,05. Nesta tese não foram produzidas réplicas das experiências pelo que este teste não é executado.

Analisando a Fig. 5.6 e 5.7 e Tabela 5.7, pode-se observar que segundo o modelo da

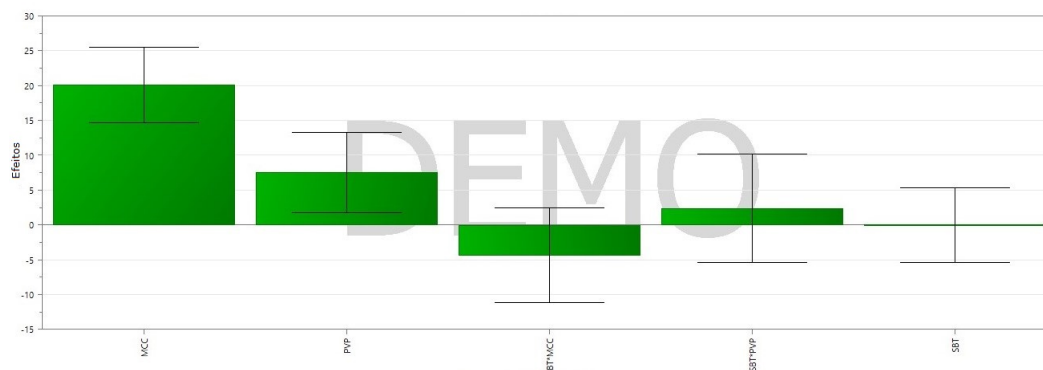


Figura 5.7: Valores absolutos da importância de cada termo do modelo para a desagregação ordenados por ordem decrescente.

desagregação, o sorbitol tem pouca significância, enquanto que a MCC e a PVP têm impacto positivo, ou seja, quanto maior a quantidade destes dois ingredientes, maiores os tempos de desagregação. Estes resultados permitem concluir que a MCC tem pouca capacidade como desagregante, funcionando principalmente como agregante nas formulações desenvolvidas. Em relação à PVP, este resultado encontra-se de acordo com o esperado, pois o objetivo de utilização deste ingrediente era como agente promotor de agregação.

Note-se que no modelo final continuam a aparecer alguns termos cujo intervalo de confiança a 95% englobam o valor 0 o que indica que podem não ser estatisticamente relevantes. Contudo a sua eliminação do modelo produz um aumento no valor de Q^2 pelo que se mantiveram.

5.2.2 Friabilidade

De forma idêntica ao mostrado anteriormente para a desagregação, o modelo para a friabilidade foi construído com base na estrutura inicial estimada para os modelos (simples e com interações).

Os valores de R^2 e Q^2 obtido considerando a estrutura inicial do modelo para a desagregação foram respetivamente 0,899 e 0,776 (um valor de Q^2 de 0,776, acima do valor de 0,5 característico de um bom modelo). Por outro lado, a diferença entre o R^2 e o Q^2 era bastante inferior à diferença característica de um bom modelo. Para a otimização do modelo

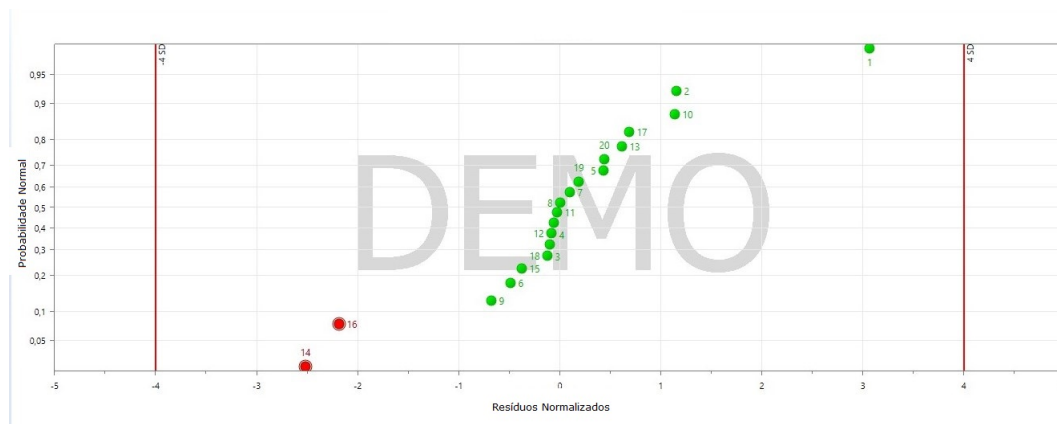


Figura 5.8: Distribuição dos resíduos para o modelo para a friabilidade não otimizado.

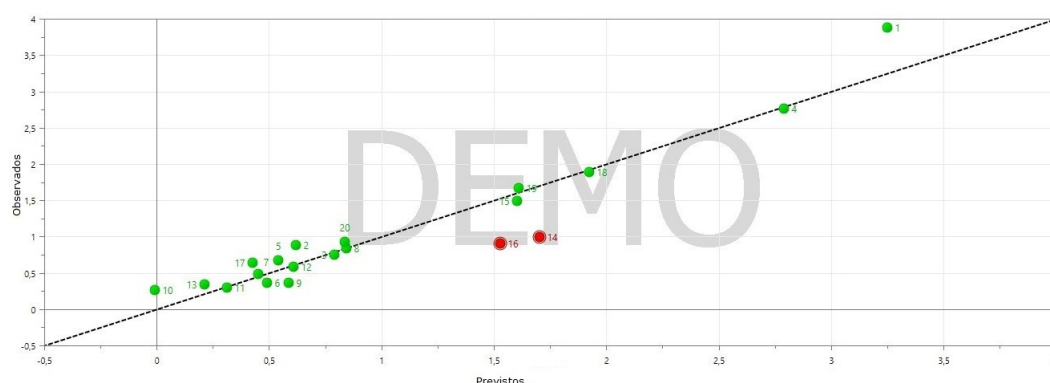


Figura 5.9: Valores observados versus previstos pelo modelo não otimizado para a friabilidade.

observou-se a distribuição dos resíduos, representada na Fig. 5.8 e o gráfico dos valores observados versus previstos representado na Fig. 5.9.

Nas Figs. 5.8 e 5.9 pode-se observar que os ensaios 14 e 16 se encontram desfasados dos restantes ensaios. Foram então excluídos estes ensaios e voltou-se a fazer o ajuste do modelo, para se analisar o comportamento do novo modelo. Com a exclusão dos ensaios 14 e 16, o valor de Q^2 subiu para 0,876. Tentou-se ainda otimizar o modelo ainda mais, analisando os coeficientes e verificando se excluindo aqueles que tivessem pouca significância para o modelo se conseguiam valores de Q^2 maiores (Fig. 5.10).

Pela análise dos coeficientes, verifica-se que o coeficiente para o termo de interação

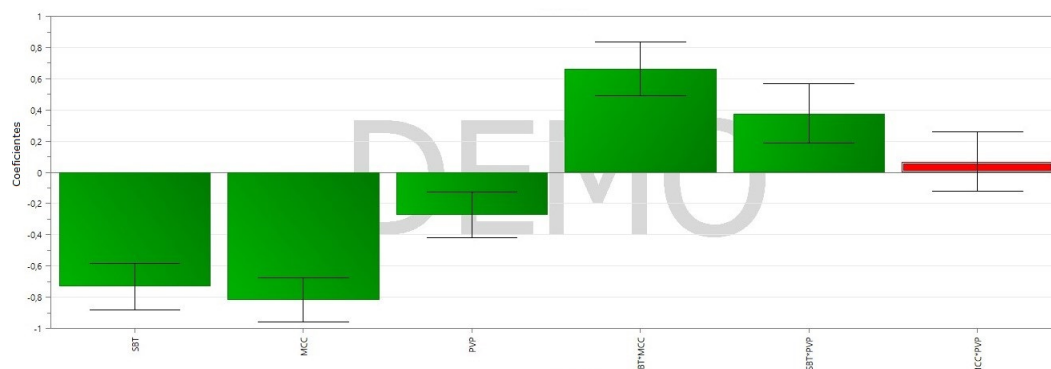


Figura 5.10: Coeficientes do modelo para a friabilidade.

MCC*PVP, se encontra muito perto de zero. Exclui-se então este termo e fez-se um novo ajuste. Com a exclusão do termo de interação MCC*PVP, verifica-se que o Q^2 aumenta para 0,896. Na Tabela 5.10 estão descritos os coeficientes do modelo otimizado para a friabilidade.

Tabela 5.10: Coeficientes e significância estatística para o modelo otimizado de previsão da friabilidade ($R^2=0,965$ e $Q^2=0,896$).

	Coeficiente	Desvio padrão	Intervalo de confiança	Valor-p
Constante	1,19418	0,0516354	0,112503	$2,54 \times 10^{-11}$
SBT	-0,720158	0,0649981	0,141618	$1,17 \times 10^{-7}$
MCC	-0,816473	0,0633279	0,137979	$2,17 \times 10^{-8}$
PVP	-0,269003	0,0664311	0,14474	$1,61 \times 10^{-3}$
SBT*MCC	0,662968	0,0771202	0,16803	$1,79 \times 10^{-6}$
SBT*PVP	0,373236	0,0852063	0,185648	$8,95 \times 10^{-4}$

Por forma a avaliar a validade estatística da regressão foi feita uma análise de variância (ANOVA) [Winer et al., 1991]. Verifica-se que a significância estatística da regressão é significativa a um nível de probabilidade de 95%, o que valida a regressão. Note-se que este teste apenas testa a razão entre a variância dos valores estimados (neste caso a friabilidade) e a variância dos resíduos do modelo. Neste caso, pretende-se que a variância dos resíduos seja substancialmente inferior à dos dados de friabilidade. O teste estatístico subjacente (teste F) tem como hipótese nula a de que estas duas quantidades são iguais. Por isso rejeita-se a

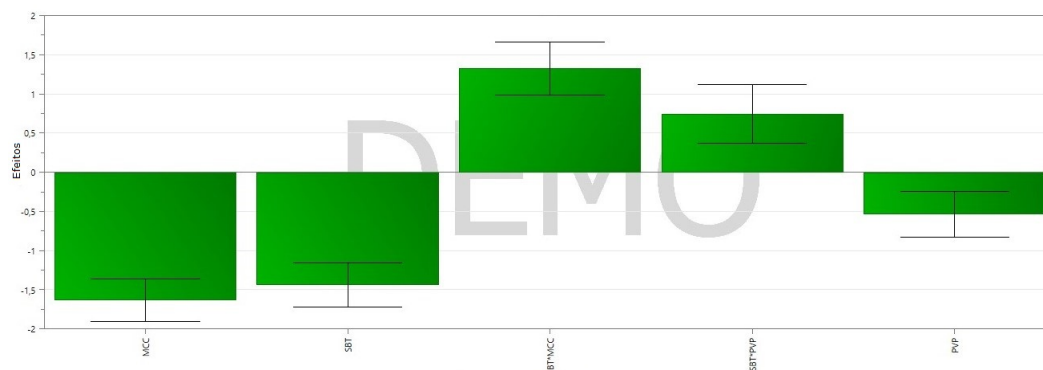


Figura 5.11: Valores absolutos da importância de cada termo do modelo para a friabilidade ordenados por ordem decrescente.

hipótese nula quando o valor-p for inferior a 0,05 o que acontece neste caso (valor- $p < 0,001$).

Analisando as Fig. 5.10 e 5.11 e Tabela 5.10 pode-se concluir que segundo o modelo da friabilidade, os ingredientes SBT, MCC e PVP têm impacto negativo, ou seja, quanto maior a quantidade destes ingredientes, menores as percentagens de friabilidade. Estes resultados estão de acordo com o esperado, pois a MCC e a PVP são ingredientes utilizados como agregantes na compressão direta. Também o SBT corresponde ao esperado, pois este ingrediente é muitas vezes utilizado na Lecifarma, quando é necessário diminuir os valores de friabilidade dos comprimidos.

5.2.3 Dureza

Apesar de nos testes de dureza ter havido 5 ensaios em que não foi possível a determinação exata do valor de dureza, apenas tendo sido determinado que estes valores se situavam acima dos 32,82 kPa, para a modelação consideraram-se os valores destes ensaios como sendo 32,82 kPa. De forma idêntica ao mostrado anteriormente para a desagregação e friabilidade, o modelo para a dureza foi construído com base na estrutura inicial estimada para os modelos (lineares com interações). Os valores de R^2 e Q^2 obtido considerando a estrutura inicial do modelo para a desagregação foram respetivamente 0,915 e 0,751. O modelo apresenta um valor de Q^2 de 0,751, acima do valor de 0,5 característico de um bom modelo. Por outro lado, a diferença entre o R^2 e o Q^2 é bastante inferior à diferença característica de

um bom modelo. Apesar do modelo apresentar boas características logo de início, tentou-se na mesma otimizar o mesmo. Para a otimização do modelo analisou-se a distribuição dos resíduos, e a significância dos coeficientes. Observou-se que o ensaio 20 se encontrava desfasado dos restantes ensaios, e que o termo de interação SBT*PVP se encontrava muito perto de zero. Optou-se pela exclusão do ensaio 20 e do termo de interação SBT*PVP, verificando-se um aumento de Q^2 para 0,886 apresentando assim o modelo um poder preditivo superior ao modelo anterior. Na Tabela 5.11 estão descritos os valores dos coeficientes dos fatores (ingredientes da formulação) em relação à resposta (dureza), de acordo com o modelo otimizado.

Tabela 5.11: Coeficientes e significância estatística para o modelo otimizado de previsão da dureza ($R^2=0,945$ e $Q^2=0,886$).

	Coeficiente	Desvio padrão	Intervalo de confiança	Valor-p
Constante	24,9045	0,45885	0,991286	$1,03 \times 10^{-16}$
SBT	4,33543	0,587674	1,26959	$5,36 \times 10^{-6}$
MCC	7,14413	0,597902	1,29169	$2,20 \times 10^{-8}$
PVP	1,99507	0,623146	1,34622	$6,90 \times 10^{-3}$
SBT*MCC	-2,99666	0,746687	1,61312	$1,47 \times 10^{-3}$
SBT*PVP	-0,98739	0,829624	1,79229	$2,55 \times 10^{-1}$

Por forma a avaliar a validade estatística da regressão foi feita uma ANOVA [Winer et al., 1991]. Verifica-se que a significância estatística da regressão é significativa a um nível de probabilidade de 95%, o que valida a regressão. Note-se que este teste apenas testa a razão entre a variância dos valores estimados (neste caso a dureza) e a variância dos resíduos do modelo. Neste caso, pretende-se que a variância dos resíduos seja substancialmente inferior à dos dados de dureza. O teste estatístico subjacente (teste F) tem como hipótese nula a de que estas duas quantidades são iguais. Por isso rejeita-se a hipótese nula quando o valor-p for inferior a 0,05 o que acontece neste caso (valor-p<0,001)

Analisando a Fig. 5.12, pode-se concluir que os ingredientes SBT, MCC e PVP têm impacto positivo, quanto maior a quantidade destes três ingredientes, maior a dureza. Considerando a MCC e a PVP, estes resultados estão de acordo com o esperado, pois a MCC e a PVP são ingredientes utilizados como agregantes na compressão direta. Também o SBT

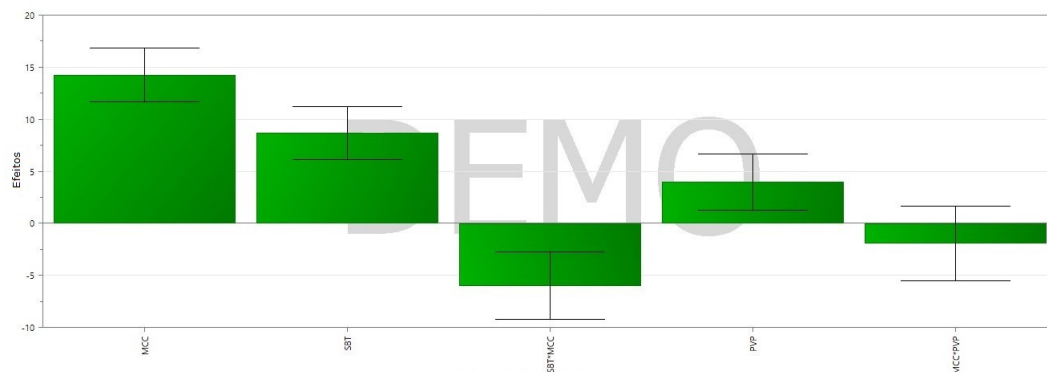


Figura 5.12: Valores absolutos da importância de cada termo do modelo para a dureza ordenados por ordem decrescente.

corresponde ao esperado, pois este ingrediente é utilizado na Lecifarma, quando é necessário aumentar os valores de dureza dos comprimidos.

5.2.4 Análise dos modelos

A Tabela 5.12 resume os modelos estimados para as três respostas com base nos três fatores que foram variados.

Tabela 5.12: Resumo dos modelos estimados para as três respostas com base nos três fatores que foram variados.

Resposta	Termos								
	Constante	MCC	PVP	SBT	MCC*PVP	MCC*SBT	PVP*SBT	R ²	Q ²
Desagregação	328,236	100,573	377,893	-0,00983892	—	-218,211	117,902	0,860	0,661
Dureza	249,045	714,413	199,507	433,543	-0,98739	-299,666	—	0,945	0,886
Friabilidade	119,418	-0,816473	-0,269003	-0,720158	0,373236	0,662968	—	0,965	0,896

Tabela 5.13: Intervalo de dados pretendidos em relação aos valores de friabilidade, dureza e desagregação.

Resposta	Mínimo	Objetivo	Máximo
Friabilidade	0	0,5	1
Dureza	10	15	30
Desagregação	0	15	30

5.3 Estimativa da formulação ideal de comprimidos com 1000 mg de Vit. C

5.3.1 Otimização da formulação

Construídos os modelos para a desagregação, friabilidade e dureza, criaram-se com base nestes algumas formulações teóricas. Para tal foi utilizada a ferramenta *Optimizer* do aplicativo Modde. Nesta ferramenta, foram indicados os valores de friabilidade, dureza e desagregação pretendidos, de forma a devolver as quantidades de SBT, MCC e PVP necessárias. O aplicativo usado utiliza um algoritmo de otimização baseado no algoritmo SIMPLEX para com base num conjunto de restrições impostas às respostas (podem ser impostas restrições de natureza variada e também a uma ou mais respostas) estimar um conjunto de condições para os fatores capazes de produzir um ensaio com as características pretendidas. Naturalmente que este processo envolve múltiplas simulações que utilizam os modelos otimizados para as três respostas. Os resultados desta otimização estão por isso intimamente ligados à qualidade dos modelos desenvolvidos. Os valores pretendidos para a friabilidade, dureza e desagregação foram os especificados nos testes farmacotécnicos e encontram-se descritos na Tabela 5.13.

A otimização produzida devolveu um conjunto de formulações (Tabela 5.14) sendo a formulação com melhores resultados constituída por 299,9 mg de SBT, 56,3 mg de MCC e 20 mg de PVP. Notar que o algoritmo devolve não um valor ótimo, mas sim um conjunto de possíveis soluções das quais se deve selecionar uma. Normalmente o critério a utilizar consiste na escolha do ensaio que maximiza um critério do logaritmo do determinante. Foi este o critério escolhido. Esta formulação quando aplicada aos modelos desenvolvidos dá origem a

0,52% de friabilidade, 22,3 kPa de dureza e 20,3 minutos de tempo de desagregação. Estas previsões estão todas próximas dos valores considerados alvo para as três respostas e em todos os casos dentro dos limites definidos como aceitáveis (Tabela 5.13). Idealmente deveriam ser produzidos os comprimidos correspondentes a estas formulações. A estes comprimidos seriam realizados os testes de friabilidade, desagregação e dureza. Os resultados destes testes, seriam comparados com os resultados teóricos dos modelos, possibilitando a validação das formulações teóricas.

Tabela 5.14: Tabela com listagem de formulações encontradas após otimização com os respetivos cálculos de capacidade. Minimizar o $Log(D)$ ou o $DPMO$ são opções possíveis para escolher uma solução.

SBT	MCC	PVP	Friabilidade	Dureza	Desagregação	Iterações	$\log(D)$	DPMO	$C_{pk, friabilidade}$	$C_{pk, dureza}$	$C_{pk, desagregao}$
299,503	79,4681	20,0246	0,498612	23,0985	21,5197	108	-0,795503	9700	1,03578	1,70131	0,944739
278,45	93,4949	20,0613	0,703592	22,6755	22,2115	50	-0,658389	23400	0,69828	1,96908	0,990982
299,956	104,346	20,0379	0,468251	23,9716	22,8296	144	-0,674879	10400	1,02628	1,63707	0,845322
280,435	50,0621	27,3716	0,764892	21,8323	20,9342	91	-0,667799	55800	0,538421	2,05049	1,12691
299,979	62,3254	20,0111	0,510959	22,5219	20,6194	157	-0,882777	8300	0,990293	1,71901	1,02461
281,724	84,3341	20,015	0,683692	22,4768	21,7153	67	-0,710816	20900	0,707312	1,96987	1,0223
299,855	56,3207	20,0023	0,518513	22,3196	20,302	185	-0,91551	9600	0,95324	1,69364	1,03851
299,778	50,0434	39,0617	0,586663	23,8497	22,8784	110	-0,661557	8800	0,962347	1,6439	0,905096
298,037	107,669	20,3036	0,484857	24,0276	23,0425	75	-0,663806	11700	1,08051	1,62	0,833055
286,493	57,669	20,0078	0,672573	21,7268	20,2951	72	-0,831598	21300	0,689558	1,90671	1,12904
286,017	51,3021	20,568	0,686275	21,5254	20,0329	15	-0,832905	26100	0,651578	1,92701	1,14886

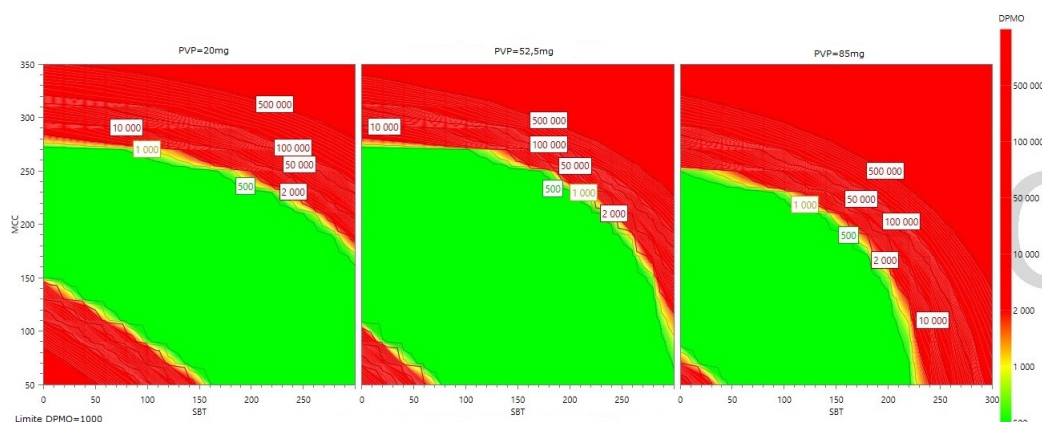


Figura 5.13: *Design-space* para a dureza.

Considerando esta formulação como o *set-point* procedeu-se à análise do *design-space* em redor desse *set-point* para a friabilidade, dureza e desagregação quando isoladas (ou seja, considerando cada uma das respostas separadamente) e quando em combinação.

5.3.2 Geração dos *design-spaces*

A Fig. 5.13 ilustra o *design-space* em torno do *set-point* escolhido, para a dureza (22,3 kPa). Pela sua análise pode-se observar que para a dureza definida existe uma grande variedade de quantidades de PVP, MCC e SBT que podem ser combinadas e que darão origem aos valores de dureza pretendida.

A Fig. 5.14 representa o *design-space* em torno do *set-point* escolhido, para a desagregação (20,3 min). Pela sua análise pode-se observar que para a desagregação definida e para a quantidade de 20 mg de PVP, os intervalos de SBT e de MCC passíveis de dar origem aos valores de desagregação pretendidos, são respetivamente 70 – 250 mg e 50 – 80 mg. Para a quantidade de 52,5 mg de PVP os intervalos de SBT e de MCC passíveis de dar origem aos valores de desagregação pretendidos, são respetivamente 60 – 180 mg e 50 – 60 mg. Para valores de 85 mg de PVP, não existe nenhuma combinação de valores de SBT e MCC passível de dar resultados de desagregação pretendidos.

A Fig. 5.15 ilustra o *design-space* em torno do *set-point* escolhido para a friabilidade (0,52%). Pela sua análise pode-se observar que para a desagregação definida e para a quantidade de 20 mg de PVP não existe nenhuma combinação de valores de SBT e MCC passível

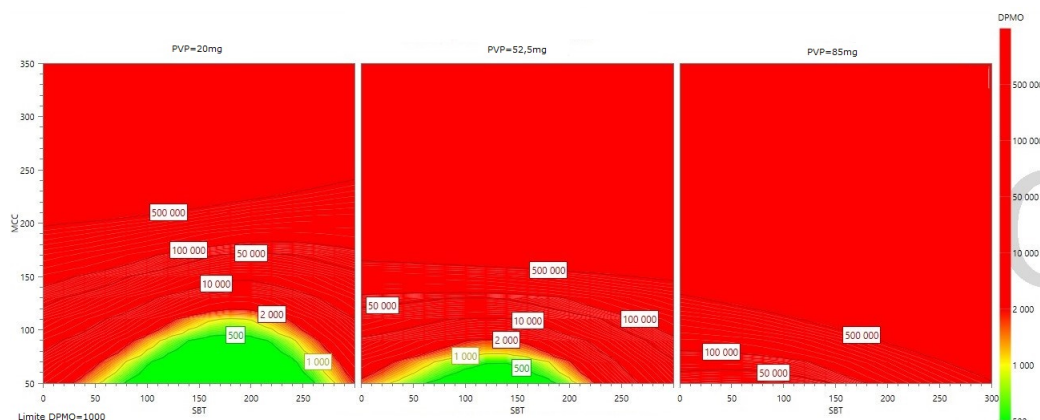


Figura 5.14: *Design-space* para a desagregação.

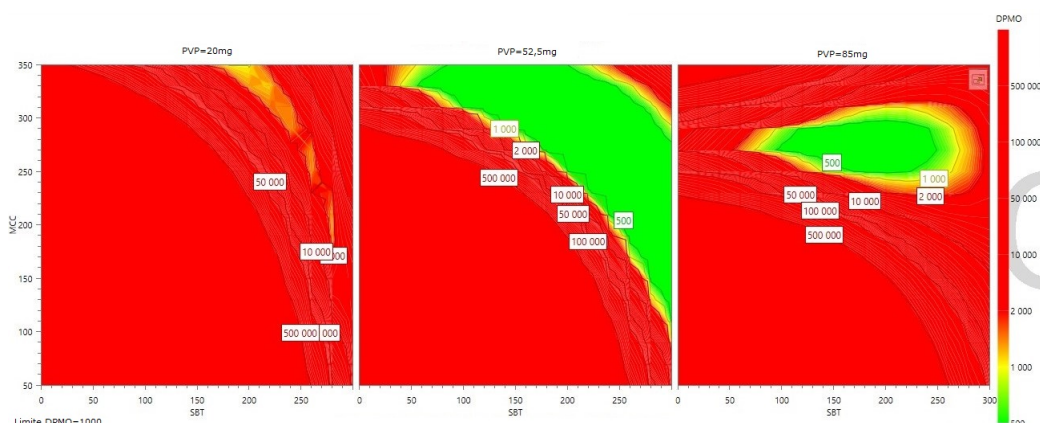


Figura 5.15: *Design-space* para a friabilidade.

de dar resultados de friabilidade pretendidos. Para valores de 52,5 mg de PVP existem resultados de friabilidades pretendidos sobrepondo um intervalo de 100 – 350 mg de MCC com um intervalo de 60 – 300 mg de SBT. Para valores de 85 mg de PVP existem resultados de friabilidades pretendidos sobrepondo um intervalo de 250 – 300 mg de MCC com um intervalo de 100 – 250 mg de SBT.

A Fig. 5.16 representa *design-space* em torno do *set-point* escolhido, para a friabilidade (0,52%) em combinação com a dureza (22,3 kPa). Pela sua análise pode-se observar que em redor do *set-point* não existem combinações entre a PVP o SBT e a MCC capazes de retornar ao mesmo tempo os valores de friabilidade e dureza pretendidos.

A Fig. 5.17 ilustra o *design-space* em torno do *set-point* escolhido, para a friabilidade

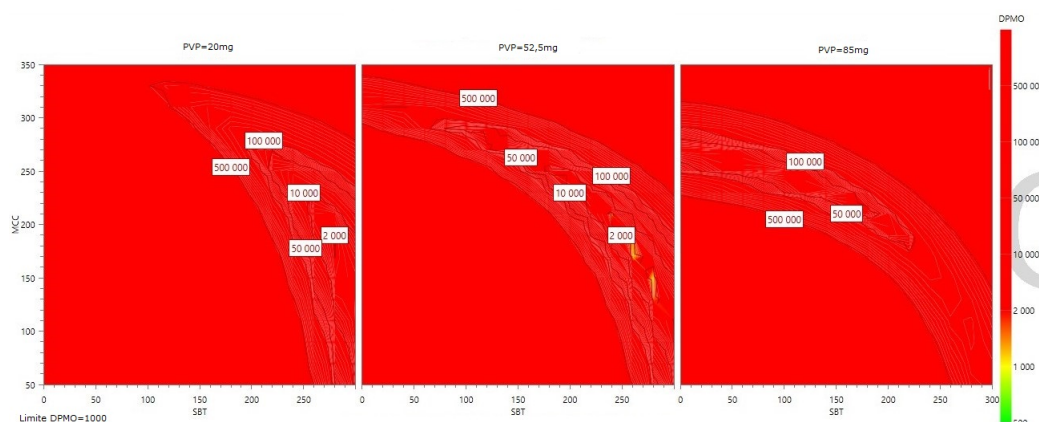


Figura 5.16: *Design-space* para a dureza combinada com a friabilidade.

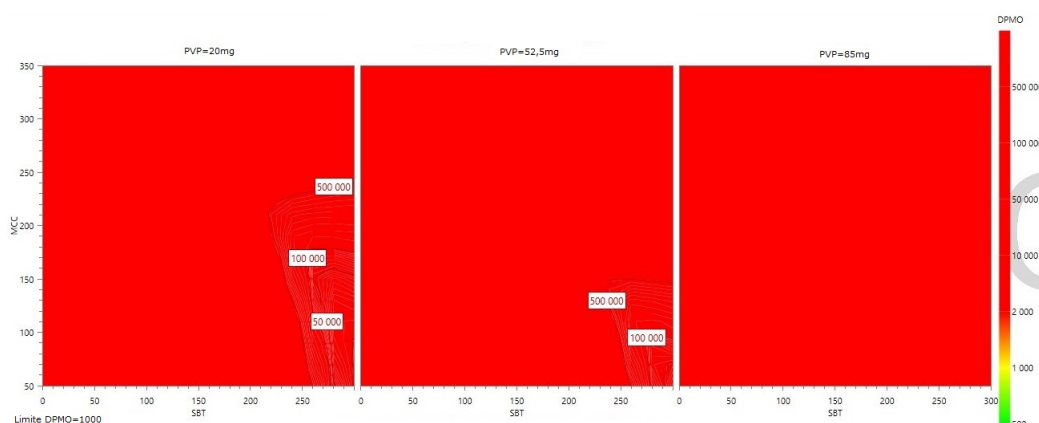


Figura 5.17: *Design-space* para a desagregação combinada com a friabilidade.

(0,52%) em combinação com a desagregação (20,3 min). Pela sua análise pode-se observar que em redor do *set-point* não existem combinações entre a PVP, SBT e a MCC capazes de retornar ao mesmo tempo os valores de friabilidade e desagregação pretendidos.

A Fig. 5.18 ilustra o *design-space* em torno do *set-point* escolhido para a dureza (22,3 kPa) em combinação com a desagregação (20,3 min). Pela sua análise pode-se observar que existem zonas onde ao mesmo tempo se verificam os valores definidos para a dureza e para a friabilidade. Estas zonas correspondem a valores de PVP de 20 mg, associados a um intervalo de 130 – 250 mg de SBT e a um intervalo de 50 – 90 mg de MCC; e a valores de PVP de 52,5 mg associados a um intervalo de 90 – 170 mg de SBT e a um intervalo de 50 – 70 mg de MCC.

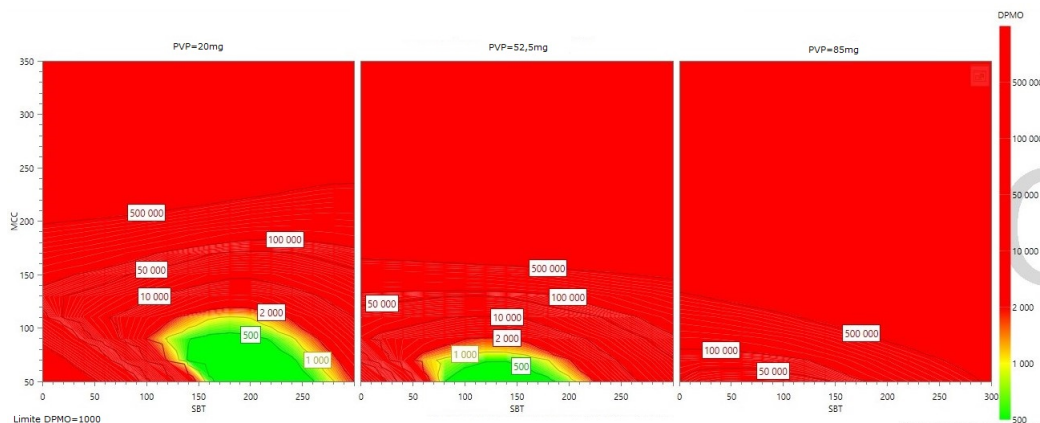


Figura 5.18: *Design-space* para a desagregação combinada com a dureza.

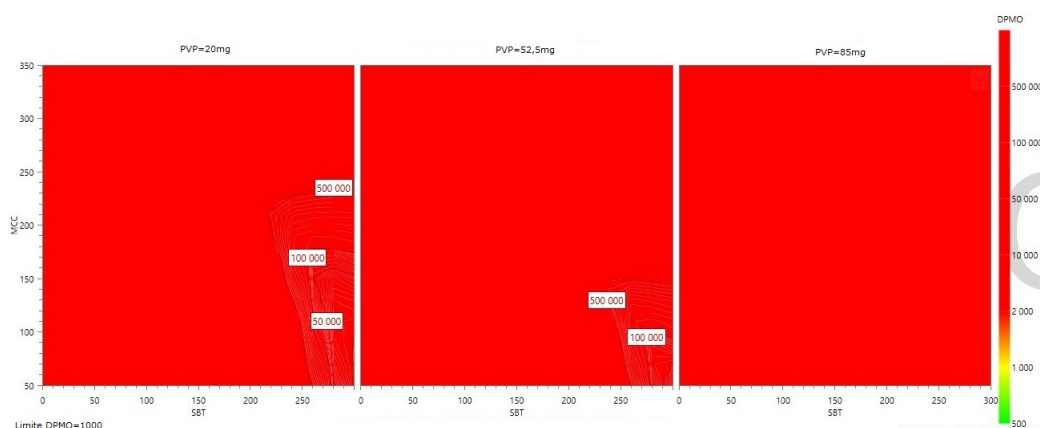


Figura 5.19: *Design-space* para a desagregação, friabilidade e dureza combinadas.

A Fig. 5.19 representa o *design-space* em torno do *set-point* escolhido, para a friabilidade (0,52%), a desagregação (20,3 min) e a dureza (22,3 kPa) combinadas. Pela sua análise pode-se observar que em redor do *set-point* não existem combinações entre a PVP o SBT e a MCC capazes de retornar ao mesmo tempo os valores de friabilidade, desagregação e dureza pretendidos.

De forma a tentar-se definir um *design-space* com melhores resultados, foram feitas varias otimizações variando os valores de friabilidade, dureza e desagregação mantendo-os ainda dentro das especificações. O melhor *design-space* encontrado encontra-se representado na Fig. 5.20.

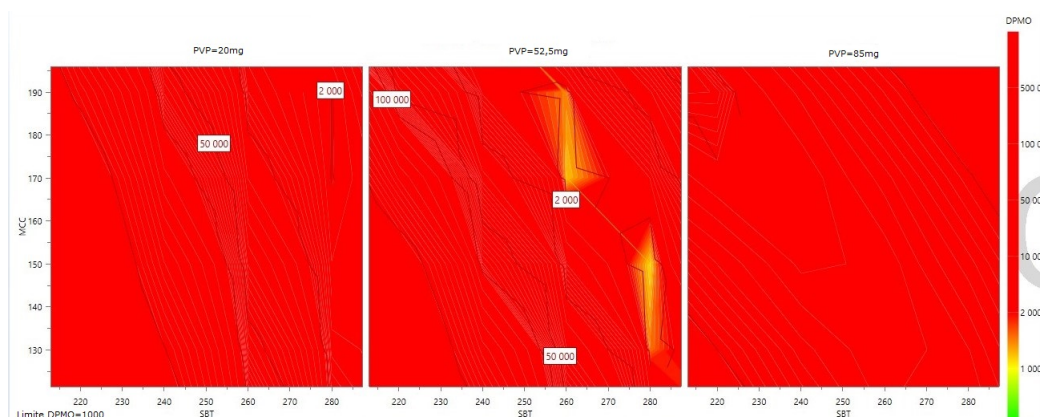


Figura 5.20: *Design-space* para a desagregação, friabilidade e dureza combinadas utilizando os melhores resultados.

O *design-space* apresentado na Fig. 5.20 corresponde às especificações presentes na Tabela 5.15.

Tabela 5.15: Intervalo de dados dos valores de friabilidade, dureza e desagregação correspondentes ao *design-space* da Fig. 5.20.

Resposta	Mínimo	Objetivo	Máximo
Friabilidade	0	0,5	1
Dureza	10	15	30
Desagregação	0	30	45

5.4 Modelação com base nos dados espectroscópicos

Os resultados obtidos pela análise dos comprimidos por NIR em modo de reflectância difusa foram utilizados com essencialmente três objetivos distintos:

1. prever os teores dos 5 componentes da formulação diretamente através dos espectros NIR;
2. Prever os valores dos ensaios farmacotécnicos diretamente através dos espectros NIR e

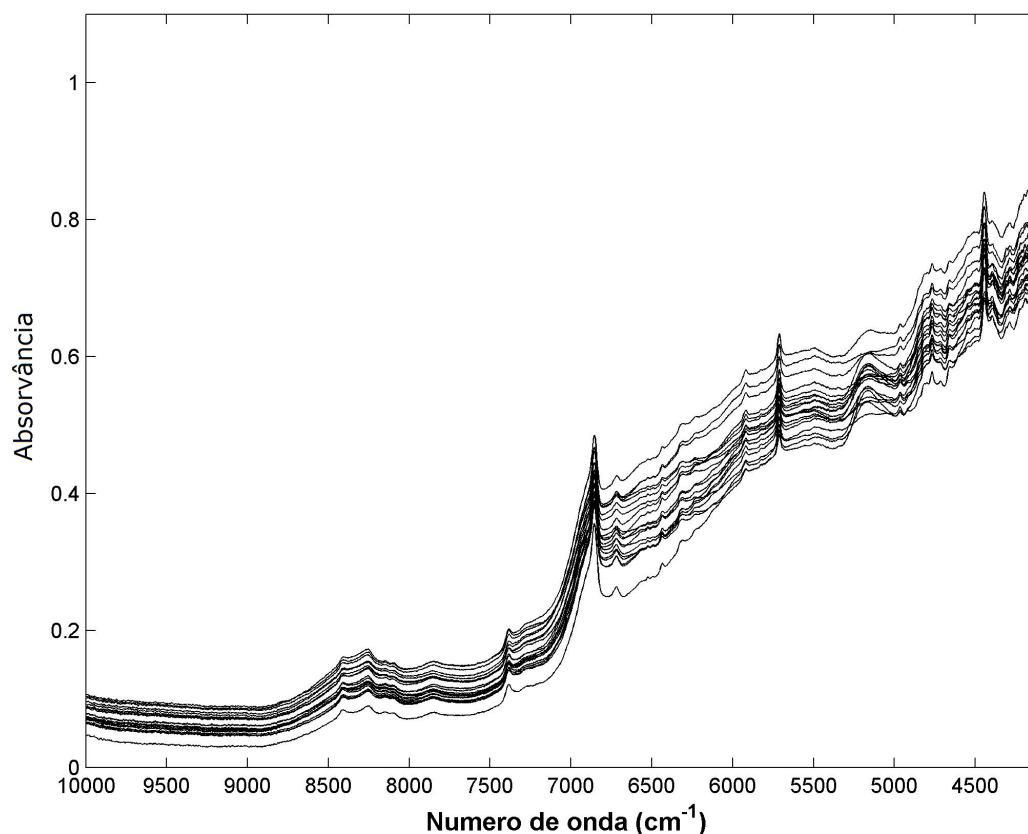


Figura 5.21: Espectros NIR médios obtidos em reflectância difusa relativos aos 20 comprimidos de Vitamina C analisados.

3. prever os valores dos ensaios farmacotécnicos através dos espectros NIR e das composições dos comprimidos.

Todos os modelos serão elaborados com base em PLS e foi utilizado o algoritmo PLS-1. Os modelos serão desenvolvidos com base no aplicativo Matlab versão 2015 (Mathwors) e na toolbox de PLS versão 7.5 (Eigenvector Research Inc.). Na Fig. 5.21 estão representados todos os espectros NIR obtidos para as 20 amostras analisadas. Por observação dos espectros pode-se observar que na região espectral entre os 10000 e 9200 cm^{-1} , não existe variação significativa, estando a zona de interesse dentro do intervalo 9233 – 4180 cm^{-1} .

Na Fig. 5.22 estão representados os espectros dos ingredientes da formulação. Comparando as Fig. 5.21 e 5.22, pode-se observar uma clara influência da vitamina C nos espectros das amostras observando-se os seus picos característicos de absorbência aos 6800, 5600 e 4000 cm^{-1} .

Para a construção dos modelos PLS foi feita uma média dos espectros NIR obtidos para cada comprimido. Foram considerados os seguintes métodos de pré-processamento espectral: Savitzky-Golay com 15 pontos de filtro, um polinómio de 2º grau e uma primeira derivada (SG(15,2,1)); Savitzky-Golay com 15 pontos de filtro, um polinómio de 2º grau e uma segunda derivada (SG(15,2,2)); SNV; SG(15,2,1)+SNV; Sg(15,2,2)+SNV; SNV+SG(15,2,1); SNV+SG(15,2,2); nenhum pré-processamento. De forma a escolher qual o método de pré-processamento ideal, os modelos foram sujeitos ao método de validação cruzada considerando um máximo de 10 variáveis latentes. Assim, com base nos resultados de *RMSECV* foram determinadas quantas variáveis latentes e quais os métodos de pré-processamento a utilizar nos modelos.

5.4.1 Análise exploratória

Foi feita uma análise através de modelação PCA dos conjuntos de dados obtidos neste trabalho que se dividiram em três grupos: 1) dados das quantidades dos cinco componentes nas formulações, 2) espectros NIR dos comprimidos e 3) dados dos ensaios farmacotécnicos. Foram desenvolvidos três modelos distintos de PCA considerando cada um destes conjuntos de dados e os resultados estão ilustrados na Fig. 5.23. Em todas as situações a % de variância capturada nos dois primeiros componentes principais foi superior a 90%. A interpretação destes mapas de componentes principais mostra no caso das quantidades nas formulações uma distribuição espacial sem agrupamentos, o que seria de esperar uma vez que foi usado um delineamento experimental. Verifica-se que apenas um ponto se destaca neste mapa, embora seja visível o padrão típico de um delineamento experimental como o usado. Olhando para os resultados obtidos com os espectros NIR verifica-se que as experiências 1 e 6 são as que apresentam valores mais extremos em termos de CP1. De fato estas experiências, em especial a 1, também são extremas no mapa das composições. Finalmente, o resultado obtido com os ensaios farmacotécnicos permite evidenciar mais uma vez esta dispersão, sendo nítido que o ensaio 1 foi o que produziu um conjunto de valores mais extremos. Verifica-se ainda

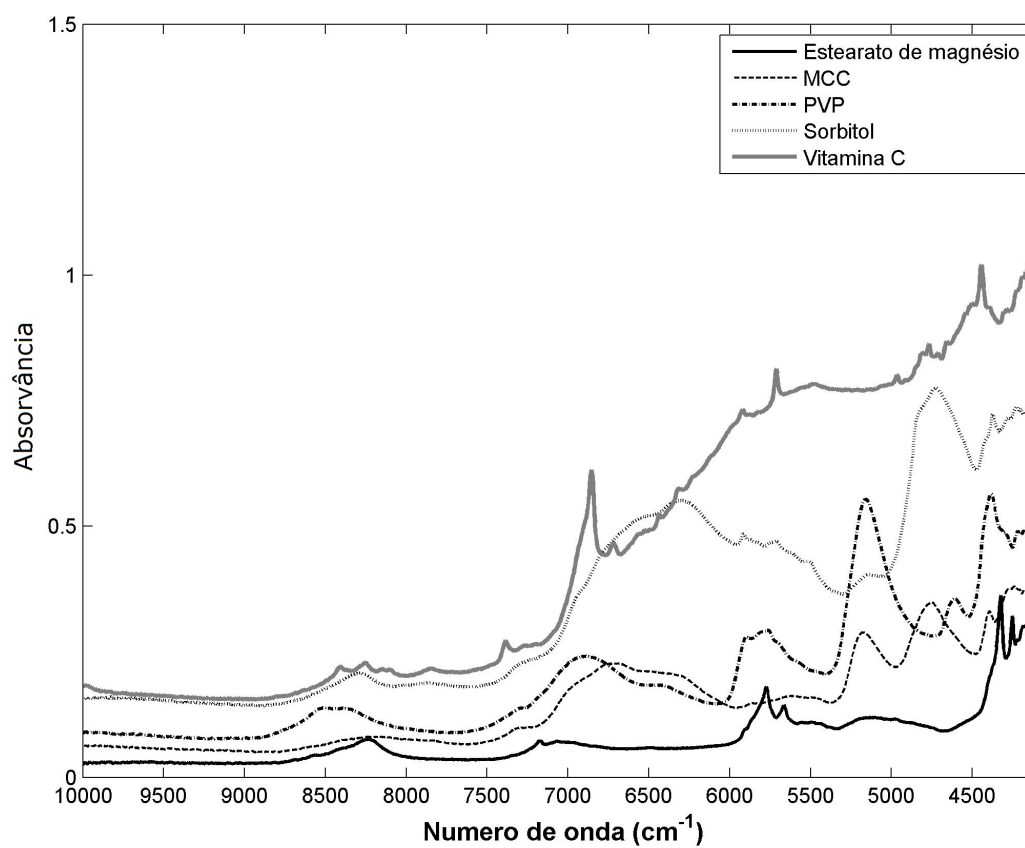


Figura 5.22: Espectros NIR médios obtidos em reflectância difusa relativos aos cinco componentes das formulações desenvolvidas. Os espectros foram obtidos a partir dos componentes em pó.

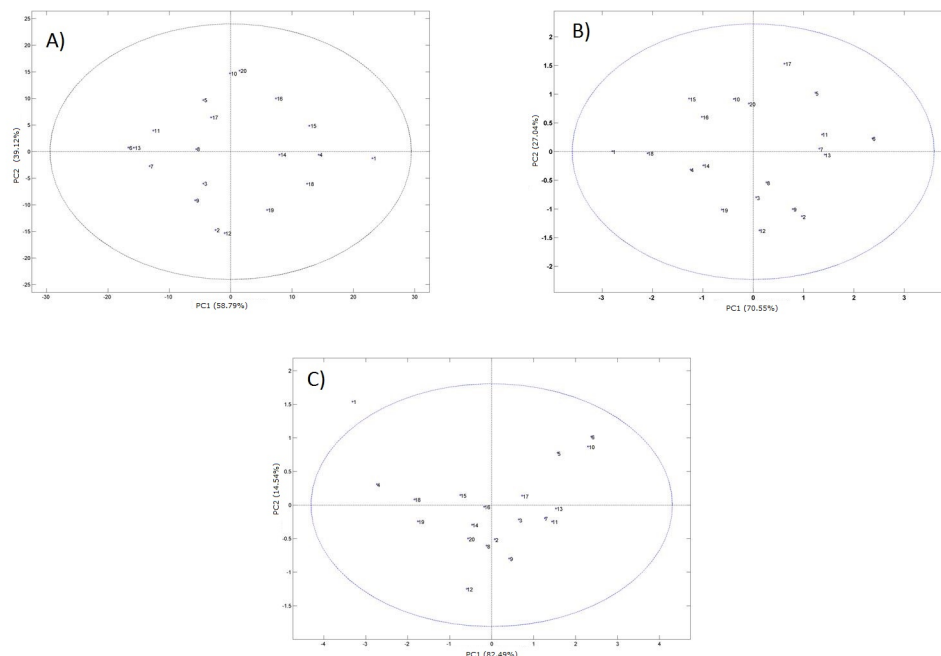


Figura 5.23: Mapa de componentes principais obtidos através de um modelo PCA aplicado aos: A) dados contendo as massas dos cinco componentes usadas nas 20 formulações, B) espectros NIR dos comprimidos baseados nas 20 formulações processados com SG(15,2,1) e centro na média e C) dados contendo os valores dos três ensaios farmacotécnicos aplicados às 20 formulações

um agrupamento de ensaios (5, 6 e 10) um pouco distantes do centro do modelo. Estes podem também ser identificados como extremos nos outros mapas. Estes resultados mostram assim que existe alguma correlação entre a composição dos comprimidos, os espectros NIR e o resultado dos ensaios farmacotécnicos.

5.4.2 Modelos baseados nos espectros NIR

Foram gerados modelos PLS para as composições e os ensaios farmacotécnicos. Na Tabela 5.16 estão descritos quais os métodos de pré-processamento com menor *RMSECV* para as respetivas variáveis latentes. A Fig. 5.24 ilustra os gráficos dos *RMSECV* em função do número de variáveis latentes e dos pré-processamentos que geraram melhores resultados.

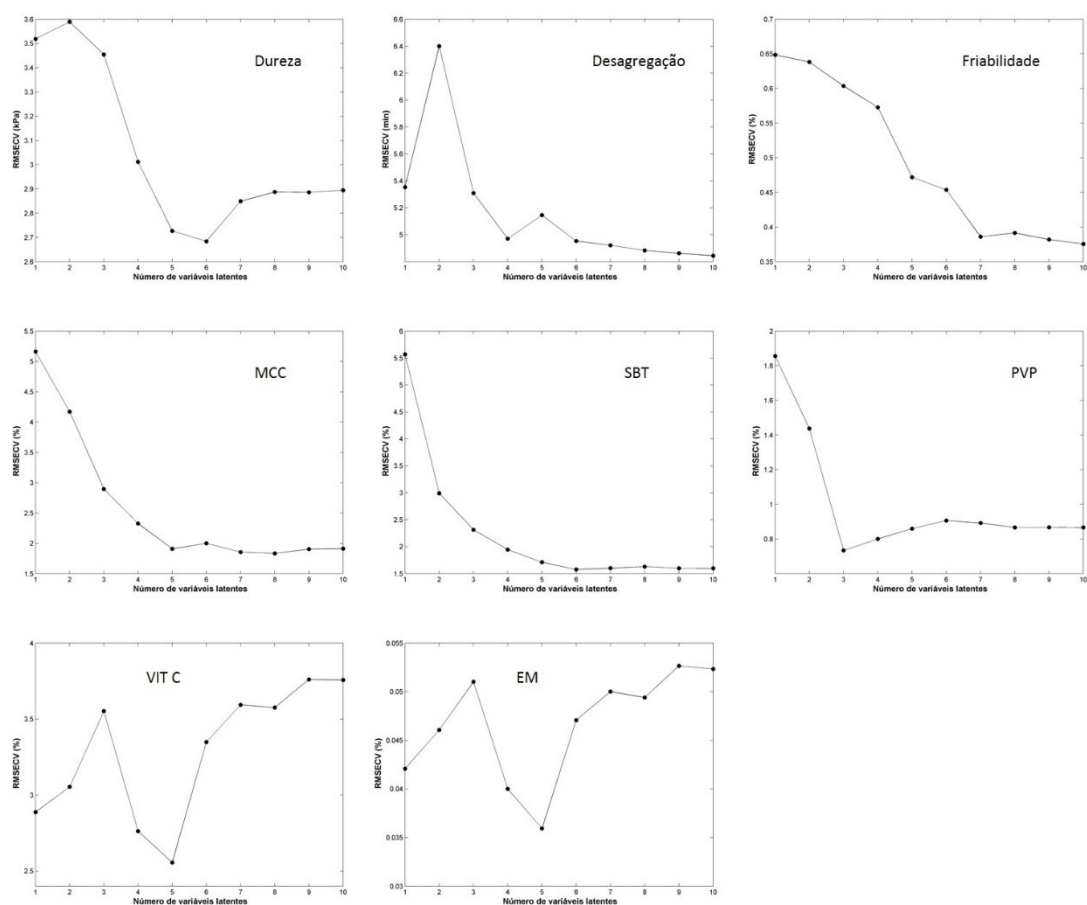


Figura 5.24: Valores de $RMSECV$ segundo as variáveis latentes dos métodos de pré-processamento com melhores resultados.

Tabela 5.16: Resumo dos resultados de pré-processamento, variáveis latentes e respetivos *RMSECV* para os parâmetros modelados.

Parâmetros	Pré-processamento	Variáveis latentes	<i>RMSECV</i>
SBT	SNV+SG(15,2,1)	6	1.5767
MCC	SNV	8	1.8340
PVP	SNV+SG(15,2,1)	3	0.7339
Vit C	SNV	5	2.5558
MS	SNV	5	0.0359
Friabilidade	SNV	10	0.3756
Dureza	SNV	6	2.6842
Desagregação	SG(15,2,2)+SNV	10	4.8442

Com os dados da Tabela 5.16 foram construídos modelos para todos os parâmetros. Para o SBT foi utilizado o pré processamento SNV+SG(15,2,1) com 6 variáveis latentes; para a MCC foi utilizado o pré processamento SNV com 8 variáveis latentes; para a PVP foi utilizado o pré processamento SNV+SG(15,2,1) com 3 variáveis latentes; para a Vit. C foi utilizado o pré processamento SNV com 5 variáveis latentes; para o MS foi utilizado o pré processamento SNV com 5 variáveis latentes; para a friabilidade foi utilizado o pré processamento SNV com 10 variáveis latentes; para a dureza foi utilizado o pré processamento SNV com 6 variáveis latentes; e para a desagregação foi utilizado o pré processamento SNV+SG(15,2,2) com 10 variáveis latentes. Como resultado da validação cruzada, obtiveram-se retas de calibração para todos os parâmetros. Estas retas estão representadas na Fig. 5.25. Os valores do coeficiente de determinação calculado para a validação cruzada encontrado para os ingredientes SBT, MCC, PVP, Vit. C e MS foram respetivamente 0,96, 0,94, 0,83, 0,91 e 0,92. Os valores de correlação encontrados para a friabilidade, dureza e desagregação foram respetivamente 0,82, 0,82 e 0,72. Os valores de correlação e os erros relativos estão resumidos para cada modelo para cada parâmetro na Tabela 5.17.

A Tabela 5.18 resume os resultados obtidos após modelação por PLS (utilizando validação cruzada no desenvolvimento dos modelos). Não se apresentam valores de um conjunto de previsão (conjunto externo) uma vez que o número de amostras não é suficiente para a separação em dois conjuntos. Para além disso em situações em que os ensaios são gerados

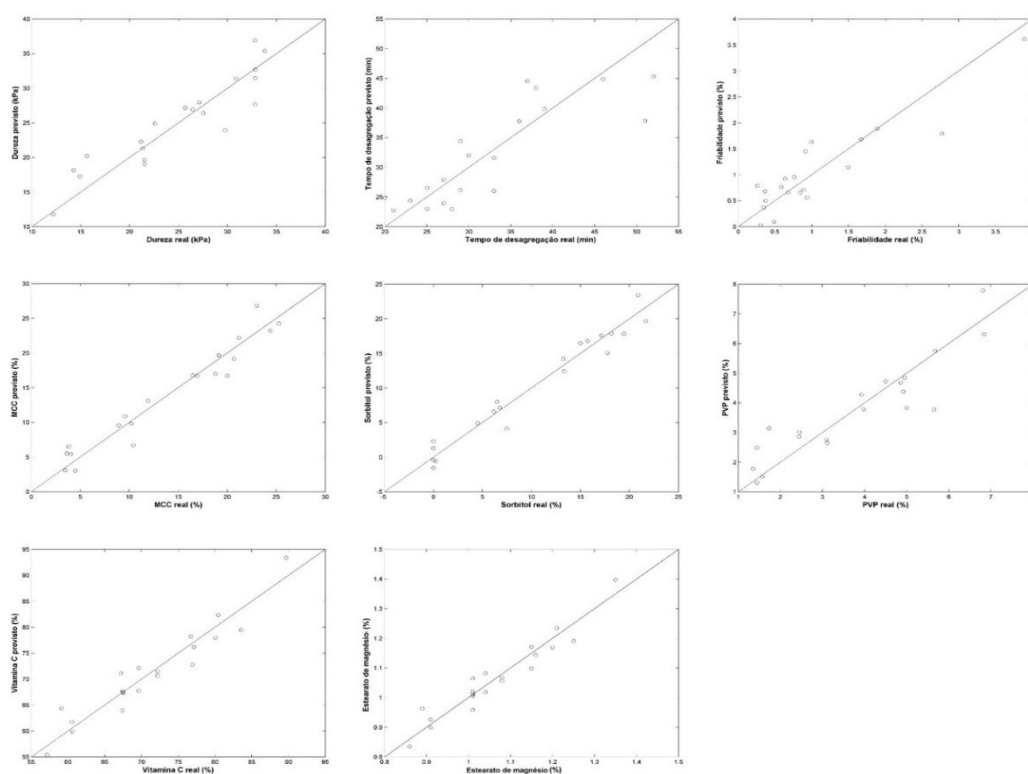


Figura 5.25: Valores experimentais em função dos valores previstos pelos modelos PLS para os parâmetros dureza, desagregação, friabilidade, MCC, SBT, PVP, Vit. C e MS.

Tabela 5.17: Resumo dos resultados dos valores de correlação e os erros relativos do modelo de cada parâmetro.

Parâmetros	R_{cv}^2	Erro relativo (%)
SBT	0.9578	15.46
MCC	0.9389	13.27
PVP	0.8261	19.38
Vit C	0.9100	3.593
MS	0.9200	3.369
Friabilidade	0.8236	35.61
Dureza	0.8452	10.78
Desagregação	0.7143	14.93

por delineamento experimental, não é adequada separar os conjuntos em calibração e teste uma vez que os ensaios são por definição gerados de forma a serem ortogonais. Deste modo, não é suposto que cada experiência esteja abrangida pelo espaço coberto pelas restantes. Poder-se-ia no entanto, fabricar um conjunto de experiências dentro das gamas usadas para os componentes da formulação e usar como conjunto independente de teste.

Tabela 5.18: Resumo dos resultados obtidos para os modelos PLS para os parâmetros SBT, MC, PVP, Vit. C, MS, friabilidade, dureza e desagregação.

Parâmetros	Intervalo espectral (cm^{-1})	Número de amostras	Pré-processamento	Variáveis latentes	RMSECV	R^2_{cv}	Erro relativo (%)	RER
SBT			SNV+SG(15,2,1)	6	1.5767	0.9578	15.46	13.74
MCC			SNV	8	1.834	0.9389	13.27	11.88
PVP			SNV+SG(15,2,1)	3	0.7339	0.8261	19.38	7.481
Vit C	9233.5 –	20	SNV	5	2.5558	0.91	3.593	12.73
MS	4180.9		SNV	5	0.0359	0.92	3.369	13.64
Friabilidade			SNV	10	0.3756	0.8236	35.61	9.653
Dureza			SNV	6	2.6842	0.8452	10.78	8.063
Desagregação			SG(15,2,2)+SNV	10	4.8442	0.7143	14.93	6.606

5.4.3 Modelos baseados em espectros NIR e composições

Tendo sido feitos modelos explicativos da desagregação, friabilidade e dureza, quer a partir das composições (MLR), quer a partir das análises espectroscópicas (PLS), criaram-se também modelos explicativos destes três parâmetros, combinando a informação proveniente da formulação (composição dos cinco componentes) e dos espectros NIR. Para a construção dos modelos PLS foram combinados os espectros NIR com as composições. Para a calibração dos modelos PLS dos dados combinados, foram testados os mesmos métodos de pré processamento utilizados nos modelos PLS anteriores: SG(15,2,1), SG(15,2,2),; SNV, SG(15,2,1)+SNV, SG(15,2,2)+SNV, SNV+SG(15,2,1), SNV+SG(15,2,2) e nenhum pré-processamento. De forma a escolher qual o método de pré-processamento ideal, procedeu-se da mesma forma que na secção anterior. Os modelos foram sujeitos ao método de validação cruzada considerando um máximo de 10 variáveis latentes. Assim, com base nos resultados de *RMSECV* foram estimadas quantas variáveis latentes e quais os métodos de pré processamento a utilizar nos modelos. Na Tabela 5.19 estão descritos quais os métodos de pré-processamento que geraram menor *RMSECV* para as respetivas variáveis latentes. A Fig. 5.26 contém os gráficos do *RMSECV* em função do número de variáveis latentes para os pré-processamentos com melhores resultados.

Tabela 5.19: Resumo dos resultados de pré-processamento, variáveis latentes e respetivos *RMSECV* para os parâmetros modelados.

Parâmetros	Pré processamento	Variáveis latentes	<i>RMSECV</i>
Friabilidade	SNV	10	0.5098
Dureza	SNV	10	1.5017
Desagregação	SG(15,2,2)+SNV	10	4.4357

Como resultado da validação cruzada, obtiveram-se previsões para todos os parâmetros. Estas previsões estão representadas na Fig. 5.27. Os valores dos coeficientes de determinação (R_{cv}^2) encontrados para a friabilidade, dureza e desagregação foram respetivamente 0,68, 0,95 e 0,76. Os valores de correlação e os erros relativos estão resumidos para cada modelo na Tabela 5.20.

Está representado na Tabela 5.21 o resumo dos resultados obtidos para os modelos PLS (validação cruzada).

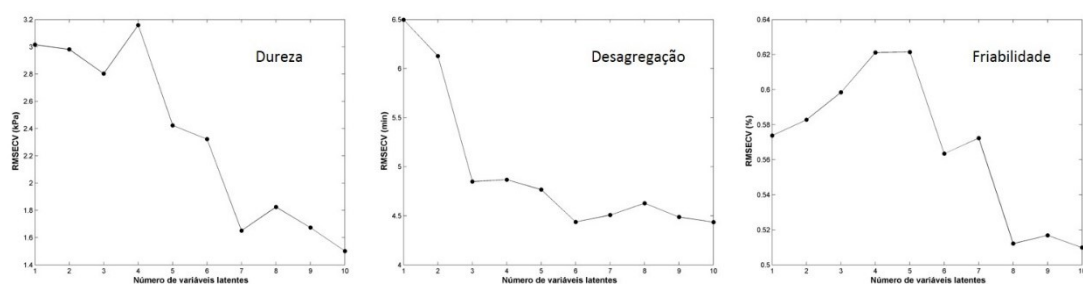


Figura 5.26: Valores de $RMSECV$ em função do número de variáveis latentes para os modelos gerados.

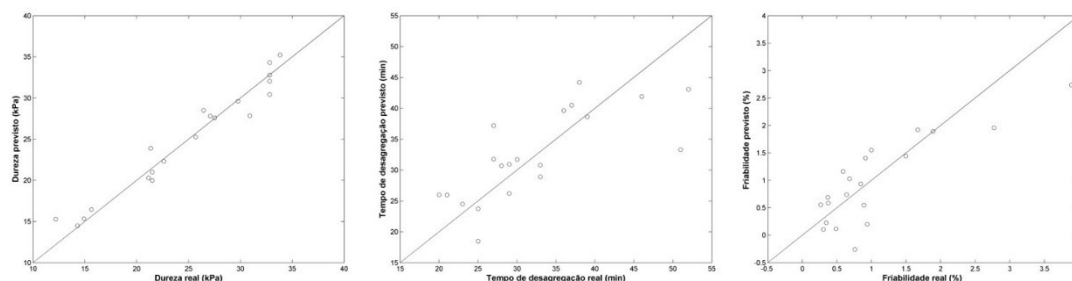


Figura 5.27: Valores experimentais em função dos valores previstos pelos modelos PLS para os parâmetros dureza, desagregação e friabilidade.

Tabela 5.20: Resumo dos resultados em termos de coeficientes de determinação e erros relativos para os vários modelos desenvolvidos.

Parâmetros	R_{cv}^2	Erro relativo (%)
Friabilidade	0.6818	48.33
Dureza	0.9522	6.036
Desagregação	0.7597	13.67

5.4.4 Comparação dos modelos

Para cada parâmetro de qualidade, foram criados três modelos, um a partir dos dados das composições com modelação matemática por MLR, um segundo a partir dos espectros NIR com modelação matemática por PLS, e um terceiro a partir da combinação dos dados dos testes farmacotécnicos com os espectros NIR com modelação matemática por PLS. Na Tabela 5.22 estão representados os resultados em relação aos três modelos criados.

Curiosamente, cada um dos parâmetros apresenta o melhor desempenho para cada um dos modelos. O modelo com melhor desempenho da friabilidade foi o modelo construído através da modelação PLS dos espectros NIR. Já para a dureza, o modelo com melhor desempenho foi o modelo construído por PLS a partir da combinação dos dados dos testes farmacotécnicos com os espectros NIR. Para a desagregação, o modelo com melhor desempenho foi o modelo construído por MLR a partir das composições. Em relação aos parâmetros, a dureza foi a que apresentou os modelos com melhor desempenho, seguida da desagregação. A friabilidade foi o parâmetro que apresentou os modelos com desempenho mais fraco.

Tabela 5.21: Resumo dos resultados obtidos para os modelos PLS dos parâmetros friabilidade, dureza e desagregação.

Parâmetros	Intervalo espectral (cm^{-1})	Número de amostras	Pré processamento	Variáveis latentes	$RMSECV$	R^2_{cv}	Erro relativo (%)	RER
Friabilidade			SNV	10	0.5098	0.6818	48.33	7.112
Dureza	9233.5 – 4180.9	20	SNV	10	1.5017	0.9522	6.036	14.41
Desagregação			SG(15,2,2)+SNV	10	4.4357	0.7597	13.67	7.214

Tabela 5.22: Comparação entre os resultados dos vários modelos desenvolvidos para os parâmetros friabilidade, dureza e desagregação.

Parâmetros	Formulação (MLR) Q^2	Espetros NIR (PLS) R^2_{cv}	Formulação e espetros NIR (PLS) R^2_{cv}
Friabilidade	0,661	0,8236	0,6818
Dureza	0,886	0,8452	0,9522
Desagregação	0,896	0,7143	0,7597

Capítulo 6

Conclusões

Neste trabalho propôs-se o desenvolvimento de formulações de comprimidos de elevado teor em vitamina c através do uso de modelos matemáticos de análise multivariada, a partir de dados correspondentes à composição das formulações, e da aquisição de espectros NIR. Para tal foram elaborados 20 ensaios de comprimidos, cada um deles com uma formulação diferente. Todas as formulações continham a mesma quantidade de vitamina C (1000 mg) e de estearato de magnésio (15 mg), apresentando valores variáveis de sorbitol, celulose microcristalina e polivinilpirrolidona. As formulações para apresentarem requisitos de qualidade, teriam de ter valores de friabilidade, dureza e desagregação conforme as especificações em vigor na Lecifarma (friabilidade inferior a 1%, dureza superior a 10 kPa, e desagregação inferior a 30 minutos (ideal) ou 45 minutos (aceitável)). Pelos testes de farmacotécnica, conclui-se que dos 20 ensaios, 8 apresentaram não conformidades. Dos 8 ensaios que não passaram nos testes, 5 não passaram no teste da friabilidade e 3 não passaram no teste da desagregação tendo todos os ensaios passado no teste da dureza. Dos 12 ensaios que apresentaram conformidade, apenas 6 apresentaram valores de desagregação considerados ideais. Pelos testes de farmacotécnica conclui-se que as formulações mais vantajosas, seriam as formulações do ensaio 14 (84 mg de SBT, 133 mg de MCC e 65 mg de PVP), pois apresentava a menor massa teórica de comprimido, e a formulação do ensaio 20 (0 mg de SBT, 350 mg de MCC e 20 mg de PVP), pois era a formulação que menos custos de matérias primas apresentava para a sua produção. Para se estudar o comportamento da friabilidade, dureza e desagregação, foram construídos modelos MLR que caracterizassem estes parâmetros em

relação aos ingredientes utilizados. Estes modelos permitiram concluir que para a desagregação, tanto a celulose microcristalina como a polivinilpirrolidona têm grande significância, contribuindo para o aumento desta. Já o sorbitol demonstrou baixa significância para desagregação. Com o modelo da friabilidade, conclui-se que todos os ingredientes (SBT, MCC e PVP) contribuem para a diminuição da friabilidade. Com o modelo da dureza, conclui-se que todos os ingredientes (SBT, MCC e PVP) contribuem para o aumento da dureza. Neste modelo é possível observar que a celulose microcristalina tem maior significância que os outros dois ingredientes em estudo. Considerando os ingredientes em estudo, pode-se concluir que a celulose microcristalina nestas formulações teve uma ação agregante, diminuindo a friabilidade, aumentando a dureza e a desagregação. Já a polivinilpirrolidona tem uma ação parecida com a celulose microcristalina, como agregante, tendo no entanto uma significância para os modelos muito inferior à da celulose microcristalina. O sorbitol tem pouca ou nenhuma influência na desagregação, tendo um impacto significativo no aumento da dureza e na diminuição da friabilidade. A partir dos modelos criados tentou-se criar uma formulação ideal para um objetivo de friabilidade (0,5%), dureza (15 kPa) e desagregação (15 min) criando-se desta forma um *design-space*. Para este objetivo não se conseguiu ter um *design-space* aceitável. O melhor *design-space* encontrado neste trabalho apresentou valores de 2 000 DPMO (defeitos por milhão de oportunidades), e foi executado para um objetivo de friabilidade (0,5%), dureza (15 kPa) e desagregação (30 min). Com base nos modelos PLS gerados a partir dos ingredientes presentes nas formulações obtidos através da aquisição de espectros NIR, conclui-se que em relação ao SBT, MCC, Vit. C e MS, que estes modelos geraram valores relativamente baixos de *RMSECV* e valores relativamente altos de R_{cv}^2 . Estes modelos tiveram valores superiores a 10 de RER (valor considerado limite para a aceitação do modelo) pelo que estão aptos para o controlo de qualidade, não estando aptos para serem utilizados para quantificação. Só mesmo o modelo para a PVP é que registou o pior resultado, tendo o maior valor de *RMSECV* (2,6%) e apresentando um valor de R_{cv}^2 abaixo de 0,90. Este modelo apresentou um valor de RER inferior a 10 não sendo por isso considerado apto para efeitos de controlo de qualidade. Foram construídos dois modelos PLS de friabilidade, dureza e desagregação, o primeiro a partir dos espectros NIR, e o segundo a partir da combinação dos espectros NIR com a composição dos comprimidos nos cinco componentes. Para a friabilidade, o melhor modelo foi o obtido a partir somente

dos espectros NIR. Para a dureza, o melhor modelo foi aquele que foi construído a partir da combinação dos espectros com os dados dos testes de farmacotécnica. Para a desagregação, os dois modelos construídos apresentam valores muito semelhantes, tendo o modelo que foi feito a partir da combinação de dados ligeiramente melhores resultados. Destes seis modelos, o modelo da dureza construído com a combinação de dados é o único que apresenta valores de R_{cv}^2 superiores a 0,90 e valores de RER superiores a 10. Comparando os três modelos construídos para a friabilidade, dureza e desagregação, conclui-se que o modelo com melhor desempenho da friabilidade foi o modelo construído através da modelação PLS dos espectros NIR. Já para a dureza, o modelo com melhor desempenho foi o modelo construído por PLS a partir da combinação das composições com os espectros NIR. Para a desagregação, o modelo com melhor desempenho foi o modelo construído por MLR a partir das composições. Em relação aos parâmetros, a dureza foi a que apresentou os modelos com melhor desempenho, seguida da desagregação. A friabilidade foi o parâmetro que apresentou os modelos com desempenho mais fraco.

6.1 Perspetivas futuras

De forma a melhorar os resultados desta tese, como trabalho futuro propunha o aperfeiçoamento dos modelos criados, através do aumento do número de ensaios produzidos laboratorialmente que possam alargar as gamas operatórias. Como neste trabalho não foi utilizado nenhum excipiente com capacidade comprovada desagregante (neste trabalho conclui-se que a MCC não possui capacidade desagregante) seria interessante em formulações futuras utilizar um excipiente comprovadamente desagregante (p.e. amido de milho ou amido glicolato de sódio). Neste trabalho não foram testadas as formulações identificadas como formulações ideais segundo as especificações definidas para a friabilidade dureza e desagregação, pelo que seria interessante num futuro trabalho verificar o comportamento destas formulações teóricas nos testes farmacotécnicos. Seria ainda importante poder testar os modelos desenvolvidos neste trabalho nomeadamente reproduzindo algumas formulações experimentalmente, nomeadamente aquelas consideradas como formulações ótimas de acordo com os modelos.

Bibliografia

- [Almeida, 2009] Almeida, N. (2009). Espectroscopia de infravermelho próximo com transformada de fourier (ft-nir) na caracterização de farinhas para alimentação pueril. Master's thesis, Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa, Lisbon.
- [Amigo and Ravn, 2009] Amigo, J. M. and Ravn, C. (2009). Direct quantification and distribution assessment of major and minor components in pharmaceutical tablets by nir-chemical imaging. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 37(2):76 – 82.
- [Assis, 1998] Assis, R. (1998). *Planeamento e Controlo da Produção*. ISQ - Instituto de Soldadura e Qualidade, IEFP - Instituto do Emprego e Formação Profissional, 1st edition.
- [Bakeev, 2005] Bakeev, K., editor (2005). *Process Analytical Technology - spectroscopy tools and Implementation strategies for the chemical and pharmaceutical Industries*. Blackwell, Oxford, 1st edition.
- [Barnes et al., 1989] Barnes, R. J., Dhanoa, M. S., and Lister, S. J. (1989). Standard normal variate transformation and de-trending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Applied Spectroscopy*, 43(5):772–777.
- [Beebe et al., 1998] Beebe, K., Pell, R., and Seasholtz, M. (1998). *Chemometrics: A Practical Guide*. Wiley, New York.
- [Blanco and Villarroya, 2002] Blanco, M. and Villarroya, I. (2002). Nir spectroscopy: a rapid-response analytical tool. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 21(4):240 – 250.
- [Buhler, 2001] Buhler, V. (2001). *Polyvinylpyrrolidone for the pharmaceutical industry*. BASF, Germany, 6th edition.

- [Cabaça, 2014] Cabaça, A. F. (2014). Mercado dos suplementos nutricionais à base de plantas em Portugal. Technical report, Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisbon.
- [Costa et al., 2010] Costa, M. C., Nogueira, T., Pinto, H., and Martins, A. P. (2010). Os suplementos alimentares e a saúde. papel do farmacêutico na utilização de plantas. *Revista de Fitoterapia*, 10(2):127 – 144.
- [Doelker, 1993] Doelker, E. (1993). Comparative compaction properties of various microcrystalline cellulose types and generic products. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 19(17-18):2399–2471.
- [Edge et al., 2000] Edge, S., Steele, D., Chen, A., Tobyn, M. J., and Staniforth, J. N. (2000). The mechanical properties of compacts of microcrystalline cellulose and silicified microcrystalline cellulose. *International Journal of Pharmaceutics*, 200(1):67 – 72.
- [Eriksson et al., 2008] Eriksson, L., Johansson, E., Kettaneh-Wold, N., Wikström, C., and Wold, S. (2008). *Design of Experiments – Principles and Applications*. MKS Umetrics AB, Umea, Sweden, 3rd edition.
- [Eriksson et al., 1998] Eriksson, L., Johansson, E., and Wikström, C. (1998). Mixture design—design generation, pls analysis, and model usage. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 43(1–2):1 – 24.
- [European-Commission, 2010] European-Commission (2010). Eudralex-the rules governing medicinal products in the European Union. Technical report, European Commission-Health and Consumers Directorate-General.
- [Geladi and Kowalski, 1986] Geladi, P. and Kowalski, B. R. (1986). Partial least-squares regression: a tutorial. *Analytica Chimica Acta*, 185:1 – 17.
- [Gendrin et al., 2008a] Gendrin, C., Roggo, Y., and Collet, C. (2008a). Pharmaceutical applications of vibrational chemical imaging and chemometrics: A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48(3):533 – 553.

- [Gendrin et al., 2008b] Gendrin, C., Roggo, Y., and Collet, C. (2008b). Pharmaceutical applications of vibrational chemical imaging and chemometrics: A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48(3):533 – 553.
- [Gunasekaran and Ngai, 2004] Gunasekaran, A. and Ngai, E. (2004). Information systems in supply chain integration and management. *European Journal of Operational Research*, 159(2):269 – 295.
- [Hart et al., 1962] Hart, J., Golumbic, C., and Norris, K. (1962). Determination of moisture content of seeds by near-infrared spectrophotometry of their methanol extracts. *Cereal Chemistry*, 39:94 – 881.
- [Lachman and Lieberman, 2001] Lachman, L. and Lieberman, H. (2001). *Teoria e prática na indústria farmacêutica*. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisbon, 2nd edition.
- [Lopes et al., 2004] Lopes, J. A., Costa, P. F., Alves, T. P., and Menezes, J. C. (2004). Chemometrics in bioprocess engineering: process analytical technology (pat) applications. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 74(2):269 – 275. Chimietrie 2003.
- [Luypaert et al., 2007] Luypaert, J., Massart, D., and Heyden, Y. V. (2007). Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis. *Talanta*, 72(3):865 – 883.
- [McGoverin et al., 2008] McGoverin, C., Rades, T., and Gordon, K. (2008). Recent pharmaceutical applications of raman and terahertz spectroscopies. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(11):4598 – 4621.
- [Merck-Research, 2001] Merck-Research, editor (2001). *Merck Index*. Withehouse Station: Merck Reserch, 13th edition.
- [Naes et al., 2002] Naes, T., Tomas, I., Fearn, T., and Tony, D. (2002). *A User-Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification*. NIR Publications, Chichester.
- [Pestieau et al., 2014] Pestieau, A., Krier, F., Thoorens, G., Dupont, A., Chavez, P.-F., Ziemons, E., Hubert, P., and Evrard, B. (2014). Towards a real time release approach for manufacturing tablets using {NIR} spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 98:60 – 67.

- [Piepel and Cornel, 1985] Piepel, G. and Cornel, J. (1985). Models for mixture experiments when the response depends on the total amount. *Technometrics*, 27:219 – 227.
- [Prista et al., 1996] Prista, L., Alves, A., and Morgado, R. (1996). *Tecnologia Farmacêutica*, volume III. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisbon, 4th edition.
- [Reedy and Mossoba, 1999] Reedy, G. and Mossoba, M., editors (1999). *FTIR and Hyphenated FTIR techniques for the Analysis of Foods*. Spectral Methods in Food Analysis - instrumentation and applications. CRC PRes, 1st edition.
- [Reich, 2005] Reich, G. (2005). Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(8):1109 – 1143.
- [Riddick and LeCapitaine, 2001] Riddick, F. and LeCapitaine, C. (2001). The evolution of prototype architectures developed for the scheduling software integration project. Technical report, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA.
- [Rotthäuser et al., 1998] Rotthäuser, B., Kraus, G., and Schmidt, P. (1998). Optimization of an effervescent tablet formulation containing spray dried l-leucine and polyethylene glycol 6000 as lubricants using a central composite design. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 46(1):85 – 94.
- [Rowe et al., 2012] Rowe, R. C., Sheskey, P. J., Cook, W. G., and Fenton, M. E., editors (2012). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Pharmaceutical Press and American Pharmacist Association, London, 7th edition.
- [Santos, 2011] Santos, J. M. N. M. (2011). A competitividade das exportações da indústria farmacêutica portuguesa. Master’s thesis, Instituto Superior de Economia e Gestão, Technical University of Lisbon, Lisbon.
- [Sarraguça et al., 2010] Sarraguça, M. C., Cruz, A. V., Soares, S. O., Amaral, H. R., Costa, P. C., and Lopes, J. A. (2010). Determination of flow properties of pharmaceutical powders by near infrared spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 52(4):484 – 492.

- [Sarraguça and Lopes, 2009] Sarraguça, M. C. and Lopes, J. A. (2009). Quality control of pharmaceuticals with nir: From lab to process line. *Vibrational Spectroscopy*, 49(2):204 – 210.
- [Sarraguça et al., 2011] Sarraguça, M. C., Soares, S. O., and Lopes, J. A. (2011). A near-infrared spectroscopy method to determine aminoglycosides in pharmaceutical formulations. *Vibrational Spectroscopy*, 56(2):184 – 192.
- [Savitzky and Golay, 1964] Savitzky, A. and Golay, M. (1964). Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Analytical Chemistry*, 36(8):1627–1639.
- [Shlieout et al., 2002] Shlieout, G., Arnold, K., and Müller, G. (2002). Powder and mechanical properties of microcrystalline cellulose with different degrees of polymerization. *AAPS PharmSciTech.*, 3(2):45 – 54.
- [Siesler et al., 2002] Siesler, H. W., Ozaki, Y., Kawata, S., and Heise, H. M., editors (2002). *Near-Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications*. Wiley VCH.
- [Vandeginste, 1987] Vandeginste, B. G. (1987). Chemometrics — general introduction and historical development. In *Chemometrics and Species Identification*, volume 141 of *Topics in Current Chemistry*, pages 1–42. Springer Berlin Heidelberg.
- [Wartewig and Neubert, 2005] Wartewig, S. and Neubert, R. H. (2005). Pharmaceutical applications of mid-ir and raman spectroscopy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(8):1144 – 1170.
- [Winer et al., 1991] Winer, B., Brown, D., and Michels, K. (1991). *Statistical Principles In Experimental Design*. McGraw-Hill, 3rd edition.